

GUSTAVO FRENSCH

**IDENTIFICAÇÃO E ESTUDOS VISANDO A APLICAÇÃO DE INFOQUÍMICOS PARA
O CONTROLE DO GORGULHO-DA-CASCA-DO-PINUS, *Pissodes castaneus* (DE
GEER, 1775) (COLEOPTERA, CURCULIONIDAE)**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Química Orgânica, Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ), Setor de Ciências exatas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Francisco de Assis Marques

CURITIBA

2010

Dedico este trabalho aos meus pais,
Agostinho e Denise, pelo total apoio.
Vocês tornaram este trabalho possível.

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial aos meus pais, pelo constante apoio e dedicação durante toda a minha vida.

Ao Professor Francisco de Assis Marques, pela orientação, motivação, amizade e auxílio desde o tempo da Iniciação Científica.

Aos meus amigos da vida inteira Aline, André, Caio, Carla, Felipe, Gabriel, Idmar, João Paulo e Rafael, por estarem sempre presentes, mesmo à distância.

Aos amigos que fiz durante a graduação – e que espero que continuem sendo meus amigos para sempre –, Andréia, Darlene, Loraine, Paula, Reinaldo, Selma e Terezinha, pela constante ajuda há mais de seis anos. Também aos amigos Aninha, Carol, Jonas, Maria Manuela e Raquel. Amizades estas que corrigiram o passado, já que nos tornamos amigos de infância mesmo depois de adultos.

Aos amigos de todos os tempos do LECOSIN, Ademir, Aline, Carlos, Celso, César, Dayane, Diego, Edison, Kahlil, Marcos e Ricardo.

À todos os amigos, professores e funcionários do Departamento de Química.

À Professora Beatriz Helena Lameiro de Noronha Sales Maia, pela ajuda durante o trabalho, na correção dos relatórios e pelas contribuições na qualificação e na defesa.

Ao Professor Brás Heleno de Oliveira, pelas significativas contribuições na qualificação.

À Professora Arlene Gonçalves Corrêa, pela ajuda, orientação e amizade. Por ter me recebido em seu laboratório durante os seis meses que passei em São Carlos. E também pelas contribuições na defesa desta dissertação.

Aos amigos do LSPN, da UFSCar: Alexandre, Diego, Júlia, Larissa, Marcelo, Marta, Mauro, Patrícia, Rafaela, Valdir e Vanessa.

À Professora Noemi Nagata, pela ajuda e paciência durante as análises quimiométricas.

Ao Ronei Aparecido da Paixão e ao TECPAR, pelas infinitas análises de CG-MS realizadas.

Ao Professor Wittko Francke, pela determinação da estereoquímica do grandisol e grandisal dos extratos do inseto.

À Scheila Ribeiro Zaleski, pela ajuda na criação os insetos.

À Rigesa Papel e Celulose de Três Barras-SC e ao Paulo Lima, por ceder o espaço para os testes de campo realizados.

A todos que, de uma forma ou de outra, me ajudaram a fazer este trabalho.

“Tudo o que temos de decidir é o que fazer
com o tempo que nos é dado.”

Gandalf, o Cinzento

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	i
AGRADECIMENTOS.....	ii
EPÍGRAFE.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE ESQUEMAS.....	xi
LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
I. INTRODUÇÃO.....	01
I.1 Semioquímicos.....	01
I.1.1 Infoquímicos.....	01
I.1.1.1 Aleloquímicos.....	02
I.1.1.1.1 Alomônios.....	02
I.1.1.1.2 Cairomônios.....	05
I.1.1.1.3 Sinomônios.....	07
I.1.1.2 Feromônios.....	08
I.1.1.2.1 Feromônio de Agregação.....	08
I.1.1.2.2 Feromônio de Alarme.....	09
I.1.1.2.3 Feromônio de Marcação de Território.....	09
I.1.1.2.4 Feromônio de Necroforese.....	10
I.1.1.2.5 Feromônio de Oviposição.....	10
I.1.1.2.6 Feromônio Preparador.....	11
I.1.1.2.7 Feromônio de Marcação de Trilha.....	11
I.1.1.2.8 Feromônio Sexual.....	11
I.1.1.3 Infoquímicos Induzidos por Alimentação e/ou Oviposição.....	13
I.1.1.4 Infoquímicos Aplicados ao Manejo Integrado de Pragas.....	15
I.2 <i>Pinus spp.</i>	16
I.2.1 <i>Pinus caribaea</i>	17
I.2.2 <i>Pinus elliottii</i>	17
I.2.3 <i>Pinus maximinoi</i>	18
I.2.4 <i>Pinus patula</i>	18
I.2.5 <i>Pinus taeda</i>	18
I.3 <i>Curculionidae</i>	19
I.3.1 Infoquímicos de <i>Curculionidae</i>	19

I.4 <i>Pissodes spp.</i>	20
I.4.1 Infoquímicos de <i>Pissodes spp.</i>	21
I.4.2 <i>Pissodes castaneus</i>	21
II. OBJETIVOS.....	25
II.1 Objetivos Específicos.....	25
III. MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
III.1 Obtenção e Criação dos Insetos.....	26
III.2 Teste Comportamental em Olfatômetros em Y.....	26
III.3 Aeração de Machos e Fêmeas de <i>P. castaneus</i>	27
III.4 Determinação da Estereoquímica Absoluta de Grandisol e Grandisal....	27
III.5 Aeração de Ramos de <i>Pinus spp.</i>	28
III.6 Determinação da Composição Enantiomérica de α - e β -pineno nos Voláteis de <i>Pinus spp.</i>	28
III.7 Análise Quimiométrica dos Voláteis de <i>Pinus spp.</i>	28
III.8 Extração e Análise dos Voláteis de <i>P. taeda</i> Induzidos por Ataques de <i>P. castaneus</i>	29
III.9 Teste de Armadilhas contra <i>P. castaneus</i>	29
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
IV.1 Testes Comportamentais em Olfatômetro em Y.....	31
IV.2 Extração e Análise dos Voláteis de <i>P. castaneus</i>	32
IV.3 Determinação da Estereoquímica absoluta do grandisol e grandisal....	33
IV.4 Extração e Análise dos Voláteis de <i>Pinus spp.</i>	36
IV.5 Determinação da Composição Enantiomérica de α - e β -pineno nos Voláteis de <i>Pinus spp.</i>	38
IV.6 Análise Quimiométrica dos Voláteis de <i>Pinus spp.</i>	38
IV.6.1 Análise de Componentes Principais (PCA).....	39
IV.6.2 Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA).....	42
IV.7 Extração e análise dos Voláteis de <i>P. taeda</i> induzidos por <i>P. castaneus</i>	43
IV.8 Teste de Armadilhas contra <i>P. castaneus</i>	46
V. CONCLUSÃO.....	47
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
ANEXOS.....	56
Cromatograma do extrato dos machos de <i>P. castaneus</i>	57
Espectro de massas do grandisal.....	58
Espectro de massas do grandisol.....	59

Cromatograma dos voláteis de <i>P. caribaea</i>	60
Cromatograma dos voláteis de <i>P. elliottii</i>	61
Cromatograma dos voláteis de <i>P. maximinoi</i>	62
Cromatograma dos voláteis de <i>P. patula</i>	63
Cromatograma dos voláteis de <i>P. taeda</i>	64
Cromatograma dos voláteis de <i>P. taeda</i> induzidos por fêmeas de <i>P. castaneus</i>	65
Cromatograma dos voláteis de <i>P. taeda</i> induzidos por machos de <i>P. castaneus</i>	66
Espectro de massas do α -pineno.....	67
Espectro de massas do sabineno.....	68
Espectro de massas do β -pineno.....	69
Espectro de massas do mirceno.....	70
Espectro de massas do δ -2-careno.....	71
Espectro de massas do limoneno.....	72
Espectro de massas do β -felandreno.....	73
Espectro de massas do terpinoleno.....	74
Espectro de massas do <i>p</i> -menta-2,4(8)-dieno.....	75
Espectro de massas do éter timol metílico.....	76
Espectro de massas do acetato de bornila.....	77
Espectro de massas do β -elemeno.....	78
Espectro de massas do (<i>E</i>)-cariofileno.....	79
Espectro de massas do α -humuleno.....	80
Espectro de massas do germacreno D.....	81
Espectro de massas do α -muuruleno.....	82
Espectro de massas do canfeno.....	83
Espectro de massas do (<i>Z</i>)- β -ocimeno.....	84
Espectro de massas do composto 1121.....	85
Espectro de massas do acetato de isobornila.....	86
Espectro de massas do prezizaeno.....	87
Espectro de massas do composto 1480.....	88
Espectro de massas do (<i>E</i>)-muurola-4(14),5-dieno.....	89
Espectro de massas do zonareno.....	90

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	<i>Lygus lineolaris</i> e seus compostos de defesa.....	03
Figura 02	<i>Epilachna varivestis</i> , <i>Lasius niger</i> e as macrolactonas produzidas pelo besouro.....	03
Figura 03	<i>Mymecaphodius excavaticollis</i> e <i>Solenopsis ritcheri</i>	04
Figura 04	<i>Dracula chesteronii</i> e <i>Bradysia praecox</i>	04
Figura 05	Aranha-bola projetando uma esfera de seda.....	04
Figura 06	O pulgão-da-ervilha, <i>Acyrtosiphon pisum</i> , o parasitóide <i>Aphidius ervi</i> e o ataque da vespa ao pulgão.....	05
Figura 07	<i>Scotylus multistriatus</i> , árvore de olmo atacada pelo fungo e α -cubebeno.....	06
Figura 08	<i>Dendroctonus brevicomis</i> , árvore de <i>Pinus ponderosa</i> atacada pelo inseto e o cairomônio envolvido na interação, mirceno.....	06
Figura 09	<i>Myzus persicae</i> , <i>Adalia bipunctata</i> e (<i>E</i>)- β -farneseno.....	06
Figura 10	<i>Bulbophyllum cheiri</i> , <i>Bactrocera papayae</i> e metilchavicol.....	07
Figura 11	Formigas recebendo o honeydew.....	07
Figura 12	<i>Rosalia funebris</i> e seu feromônio de agregação, (<i>E</i>)-2-hexenoato de (<i>Z</i>)-3-decenila.....	08
Figura 13	<i>Vespa mandarinia</i> e seus feromônios de alarme, 2-pentanol, 3-metil-1-butano e 3-metil-butanoato de 1-metil-butila.....	09
Figura 14	Soldado de <i>Atta laevigata</i> e feromônios de marcação de território....	09
Figura 15	<i>Pogomymex badius</i> , <i>Solenopsis invicta</i> e o ácido oléico.....	10
Figura 16	<i>Aedes aegypti</i> e <i>n</i> -heneicosano.....	10
Figura 17	Rainha e operária de <i>Lasius niger</i> e seu feromônio preparador.....	11
Figura 18	<i>Phyllophaga anxia</i> , planta de oxicoco e os feromônios sexuais (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-2-amino-3-metilpentanoato de metila e (<i>S</i>)-2-amino-3-metilbutanoato de metila.....	12
Figura 19	<i>Psacotha hilaris</i> e seu feromônio sexual, (<i>Z</i>)-21-metil-8-pentatriacontene.....	12
Figura 20	<i>Anomala orientalis</i> e seus feromônios sexuais.....	13
Figura 21	Interação tritrófica entre <i>Zea mays</i> , <i>Spodoptera exigua</i> e <i>Cortesia marginiventris</i>	13
Figura 22	<i>Vicia faba</i> , <i>Lygus rugulipennis</i> e os compostos utilizados na comunicação química.....	14
Figura 23	1,1,1-tricloro-2,2-bis(<i>p</i> -clorofenil)etano (DDT).....	15
Figura 24	O pulgão-gigante-do-pinus, <i>Cinara spp.</i> , e <i>Sirex noctilio</i> , pragas do	

	<i>Pinus</i>	17
Figura 25	Área natural de <i>P. taeda</i>	19
Figura 26	<i>Conotrachelus nenuphar</i> e o ácido grandisóico.....	20
Figura 27	<i>Sitona lineatus</i> e 4-metil-heptano-3,5-diona.....	20
Figura 28	Grandisol e grandisal.....	21
Figura 29	Adulto de <i>P. castaneus</i>	22
Figura 30	Danos causados pelas larvas de <i>P. castaneus</i>	23
Figura 31	Armadilha do tipo funil e toretes-armadilha.....	30
Figura 32	Análise em cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas (CG-FID) de voláteis obtidos de machos (♂) e de fêmeas (♀) de <i>P. castaneus</i> mostrando os compostos macho-específicos (<i>a</i> e <i>b</i>) envolvidos na comunicação da espécie.....	32
Figura 33	Espectro de massas do grandisal e grandisol, componentes do extrato da aeração de machos de <i>P. castaneus</i>	33
Figura 34	Cromatogramas em coluna aquiral de extrato natural contendo o grandisal e grandisol, respectivamente; extrato natural tratado com LiAlH_4	34
Figura 35	cromatogramas em coluna quiral de grandisol presente no extrato natural; grandisol preparado pelo tratamento do extrato natural com LiAlH_4 ; mistura racêmica do grandisol sintético; padrão sintético do (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-grandisol.....	34
Figura 36	Estruturas do (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-grandisol e (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-grandisal produzidos pelo inseto.....	35
Figura 37	Cromatograma da análise quiral do grandisol depois do tratamento com LiAlH_4	35
Figura 38	Cromatogramas dos voláteis de <i>P. caribaea</i> , <i>P. ellioti</i> , <i>P. maximinoi</i> , <i>P. patula</i> e <i>P. taeda</i>	37
Figura 39	Gráficos de scores das amostras de <i>Pinus</i> : Componente 1 vs Componente 2, Componente 1 vs Componente 3 e Componente 2 vs Componente 3.....	40
Figura 40	Gráficos de loadings das amostras de <i>Pinus</i> : Componente 1 vs Componente 2, Componente 1 vs Componente 3 e Componente 2 vs Componente 3.....	41
Figura 41	Dendograma usando o método de KNN para HCA das espécies <i>P.</i> <i>elliottii</i> , <i>P. taeda</i> , <i>P. caribaea</i> , <i>P. maximinoi</i> e <i>P. patula</i>	42
Figura 42	Gráfico das Quantidades relativas dos compostos majoritários de <i>P.</i>	

	<i>taeda</i> saudáveis, atacados por fêmeas e por machos de <i>P.</i>	
	<i>castaneus</i>	44
Figura 43	Gráfico das Quantidades relativas dos compostos produzidos	
	apenas por <i>P. taeda</i> atacados por <i>P. castaneus</i>	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Representação esquemática das subclasses de infoquímicos.....	02
Tabela 2	Testes comportamentais em olfatômetro em Y.....	31
Tabela 3	Proporção entre os enantiômeros de grandisal e grandisol produzidos pelas espécies de <i>Pissodes</i>	36
Tabela 4	Proporção entre grandisal e grandisol produzidos pelas espécies de <i>Pissodes</i>	36
Tabela 5	Quantidade relativa de cada composto por espécie de <i>Pinus</i>	37
Tabela 6	Composição enantiomérica de α - e β -pineno nos voláteis de <i>Pinus spp</i>	38
Tabela 7	Voláteis produzidos por <i>P. taeda</i> quando saudável e quando atacado por <i>P. castaneus</i>	45

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Tipo de dano causado <i>versus</i> defesa da planta.....	14
Esquema 2	Olfatômetro em Y.....	26
Esquema 3	Disposição das armadilhas no campo.....	30
Esquema 4	Classificação taxonômica das espécies de <i>Pinus</i> analisadas.....	43

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

MIP	Manejo Integrado de Pragas
DDT	1,1,1-tricloro-2,2-bis(<i>p</i> -clorofenil)etano
m	metro
cm	centímetro
mm	milímetro
μL	microlitro
mg	miligrama
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
OV-1701	14% cianopropilfenil metilpolisiloxano
PCA	Análise de Componentes Principais
HCA	Análise de Agrupamento Hierárquico
ha	hectare
χ^2	qui-quadrado
CG	Cromatografia Gasosa
FID	Detector por Ionização de Chamas
KNN	k-nearest neighbor (k-vizinho mais próximo)

RESUMO

No Brasil, plantações de pinus ocupam uma área de 1.840.050 hectares, 57,6% desta área nos Estados do Sul. As espécies mais plantadas na região Sul são *P. taeda* e *P. elliotii*, as quais são atacadas por pragas, principalmente, a vespa-da-madeira (*Sirex noctilio*), pulgões do gênero *Cinara* e mais recentemente o gorgulho-do-pinus, *Pissodes castaneus* (De Geer, 1775) (Coleoptera, Curculionidae).

Os danos produzidos por *P. castaneus* podem ser de dois tipos, o primeiro corresponde ao dano provocado pelo adulto ao alimentar-se das gemas e ramos jovens; o segundo e principal dano é ocasionado pelas larvas em seu processo de alimentação, construindo galerias e anelando ramos e troncos em árvores jovens e adultas.

Face à importância que *P. castaneus* vem adquirindo em reflorestamentos de pinus faz-se necessário desenvolver um Programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP), no intuito de criar mecanismos para o monitoramento e controle populacional, em que a identificação e emprego de semioquímicos merece destaque.

Em bioensaios utilizando olfatômetro em Y, machos atraíram apenas fêmeas, indicando que os compostos produzidos pelos machos atuam como feromônios sexuais, e a planta hospedeira atrai ambos os sexos. Foi determinado que os machos de *P. castaneus* produzem uma mistura de grandisol e grandisal. Para a determinação da estereoquímica absoluta dos compostos, o extrato natural foi tratado com LiAlH_4 e o produto obtido foi analisado por cromatografia gasosa em coluna quiral permitindo, através de comparação com padrões quirais, determinar se tratar do (1*R*, 2*S*)-grandisol em um excesso enantiomérico superior a 95%. Este resultado evidencia que *P. castaneus* produz tanto grandisal quanto grandisol com configuração (1*R*, 2*S*) e em elevada pureza óptica.

Alguns estudos anteriores mostraram que é possível distinguir espécies de *Pinus* analisando os compostos dos floemas e de outros tecidos. Neste trabalho, os voláteis produzidos pelas plantas foram analisados visando a diferenciação entre as espécies. As espécies de *Pinus* analisadas foram diferenciadas através da análise quimiométrica dos voláteis produzidos. Em especial, diferenciou-se as espécies pertencentes a subseções diferentes, como o caso de *P. patula* e *P. maximoi*.

Outros estudos mostraram que as plantas podem responder tanto para alimentação quanto oviposição dos insetos herbívoros. Respostas indiretas para a alimentação resultam na emissão de voláteis (sinomônios) que atraem inimigos naturais dos insetos. No entanto, alguns compostos induzidos por ataques de insetos

podem agir como cairomônios, e ter efeito sinérgico com feromônios exalados pelos insetos.

Neste estudo determinou-se que quando atacadas por *P. castaneus*, as árvores de *P. taeda* passam a produzir α -pineno em quantidades maiores, assim como há a interrupção da produção de β -felandreno e germacreno D. As árvores atacadas produzem também 8 compostos, alguns provavelmente são derivados de compostos produzidos pela planta sadia.

ABSTRACT

In Brazil, pine plantations cover an area of 1,840,050 million hectares, 57.6% of this area in the Southern states. The species most cultivated in the South Brazil are *P. taeda* and *P. elliottii*, which are attacked by insects, especially the wasp-of-wood (*Sirex noctilio*), the genus *Cinara* aphids and recently the pine weevil, *Pissodes castaneus* (De Geer, 1775) (Coleoptera, Curculionidae).

The damage produced by *P. castaneus* can be of two types, the first corresponds to the damage caused by the adult feeding on the buds and young branches, the second and main damage is caused by larvae in their feeding process, building galleries and longing branches and trunks on young and adult trees.

Given the importance that *P. castaneus* has been gaining in reforestation of pine it is necessary to develop a program of Integrated Pest Management (IPM) in order to establish mechanisms for monitoring and population control, in which the identification and use of semiochemicals deserves highlights.

In a bioassay using a Y olfactometer, males attracted only females, indicating that the compounds produced by males act as sex pheromones, and host plant attracts both sexes. It was determined that males of *P. castaneus* produce a mixture of grandisol and grandisol. To determine the absolute stereochemistry of these compounds, the extract was treated with LiAlH_4 and the resultant product was analyzed by gas chromatography on chiral column allowing, by comparison with chiral patterns, determine the case of (1*R*,2*S*)-grandisol in enantiomeric excess higher than 95%. This result demonstrates that *P. castaneus* produces grandisal and grandisol with (1*R*,2*S*) configuration and high optical purity.

Some previous studies showed that it is possible to distinguish species of *Pinus* by analyzing the constituents of phloem and other tissues. In this work, the volatiles produced by five species of *Pinus* were analyzed to differentiate between species. The *Pinus* species studied were differentiated by chemometric analysis of volatiles produced. In particular, differed from the species belonging to different subsections, as the case of *P. patula* and *P. maximinoi*.

Other studies have shown that plants can respond both to feeding or oviposition of herbivorous insects. Indirect responses to feeding result in the emission of volatiles (sinomones) that attract natural enemies of insects. However, some compounds induced by insect attack may act as kairomones, and have a synergistic effect with pheromones vented by insects.

When attacked by *P. castaneus*, trees of *P. taeda* start to produce α -pinene in larger amounts, as there is an interruption of the production of β -phellandrene and germacrene D. Damaged trees also produce eight compounds, some probably are derived from compounds produced by healthy plants.

I. INTRODUÇÃO

Os organismos vivos constituintes de um mesmo ecossistema têm, de forma inerente, a capacidade e a necessidade de se comunicar, seja interespecificamente quanto interespecificamente.¹ Enquanto a base da comunicação humana é a visão e a audição, nos insetos a comunicação por odores é particularmente importante. Sabe-se que desde microorganismos² a humanos³ utilizam compostos químicos com o propósito de estabelecer comunicação.

Os insetos, classe composta por mais da metade das espécies já catalogadas – cerca de um milhão e quatrocentas mil -,⁴ utilizam substâncias químicas para mediar atividades comportamentais como comportamento de defesa e agressividade, seleção de plantas hospedeiras, escolha de locais para oviposição, acasalamento, organização das atividades sociais, entre outras.⁵ A comunicação, segundo alguns autores, pode ser definida como um processo no qual, na maioria das vezes, a informação é trocada entre organismos com vantagens adaptativas para ambos,⁶ mas em alguns casos não há vantagens para um dos parceiros.^{7, 8}

I.1 Semioquímicos

As substâncias químicas envolvidas na comunicação entre organismos são denominados semioquímicos.⁹ O termo semioquímico é amplo, se referindo, também, aos nutrientes e às toxinas, além das substâncias responsáveis pelo fornecimento de informações. Assim sendo, utiliza-se o termo infoquímico para esta categoria de substância química, que transporta as informações.¹⁰

I.1.1 Infoquímicos

Infoquímicos podem ser definidos como substâncias químicas que, em seu contexto natural, fornecem informações em uma interação entre dois ou mais indivíduos, provocando, no receptor, um comportamento ou uma resposta fisiológica. A classificação dos infoquímicos se baseia no tipo de interação, se intraespecífica (feromônios) ou interespecífica (aleloquímicos), bem como na relação de qual organismo é favorecido durante a interação, seja o emissor, o receptor ou ambos. A tabela 1, abaixo, ilustra como podem ser subdivididos os infoquímicos. Entretanto, é importante lembrar que os termos são dependentes do contexto da comunicação; por exemplo, o mesmo composto produzido por uma planta pode agir como um caimônio, atraindo insetos herbívoros, como sinomônio, em uma interação entre a

planta e um predador do inseto herbívoro, e como um feromônio em uma interação inseto-inseto.⁹

Tabela 1 – Representação esquemática das subclasses de infoquímicos¹¹

Infoquímicos			
Ação intraespecífica	Ação interespecífica		
Feromônios	Aleloquímicos		
	Alomônios	Cairomônios	Sinomônios
(+ +); (+ -); (- +)	(+ -)	(- +)	(+ +)

Os sinais entre () referem-se aos organismos, emissores e receptores, respectivamente, favorecidos ou não durante a comunicação química. O sinal (+) demonstra que a comunicação é benéfica, enquanto o sinal (-) demonstra que não contribui significativamente.

I.1.1.1 Aleloquímicos

São infoquímicos mediadores de interação entre indivíduos de espécies diferentes. Tais substâncias desempenham importante função em todas as comunidades, estendendo-se, em vários casos, além de duas categorias tróficas adjacentes, mediando interação entre três ou mais níveis.¹² Os aleloquímicos se subdividem em alomônios, compostos que mediam comunicação interespecífica favorável ao emissor, cairomônios, que favorecem o receptor, e sinomônios, que mediam interações que favorecem tanto o emissor quanto o receptor.¹³

I.1.1.1.1 Alomônios

Alomônios são aleloquímicos pertinentes à biologia de um organismo e que, quando em contato com um organismo de outra espécie, causa ao receptor uma resposta comportamental ou fisiológica que é adaptativamente favorável ao organismo emissor e não ao receptor.¹⁴

Alomônios são utilizados amplamente por insetos como um mecanismo de defesa. Por exemplo, o percevejo *Lygus lineolaris* (figura 1) – uma praga em plantações na América do Norte – produz uma mistura de compostos que são usados na defesa contra predadores.¹⁵

O besouro *Epilachna varivestis* (figura 2) produz, como defesa contra o seu predador natural, a formiga negra *Lasius niger*, uma série de macrolactonas.¹⁶

Myrmecaphodius excavaticollis (figura 3) tem a capacidade de absorver, pelo contato, hidrocarbonetos cuticulares produzidos pela formiga lava-pés, *Solenopsis ritcheri*. Com isso, o besouro pode transitar livremente nas colônias e obter alimentos, porque é identificado, através destes compostos, como um indivíduo da mesma espécie.^{17, 18}

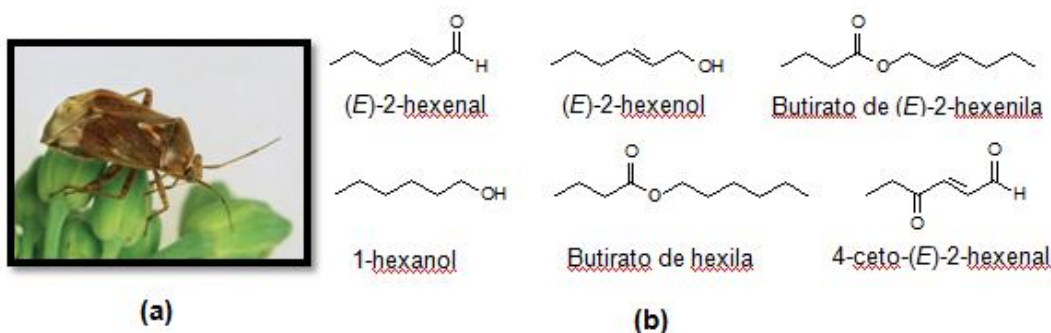


Figura 1 – *Lygus lineolaris* (a) e seus compostos de defesa (b)

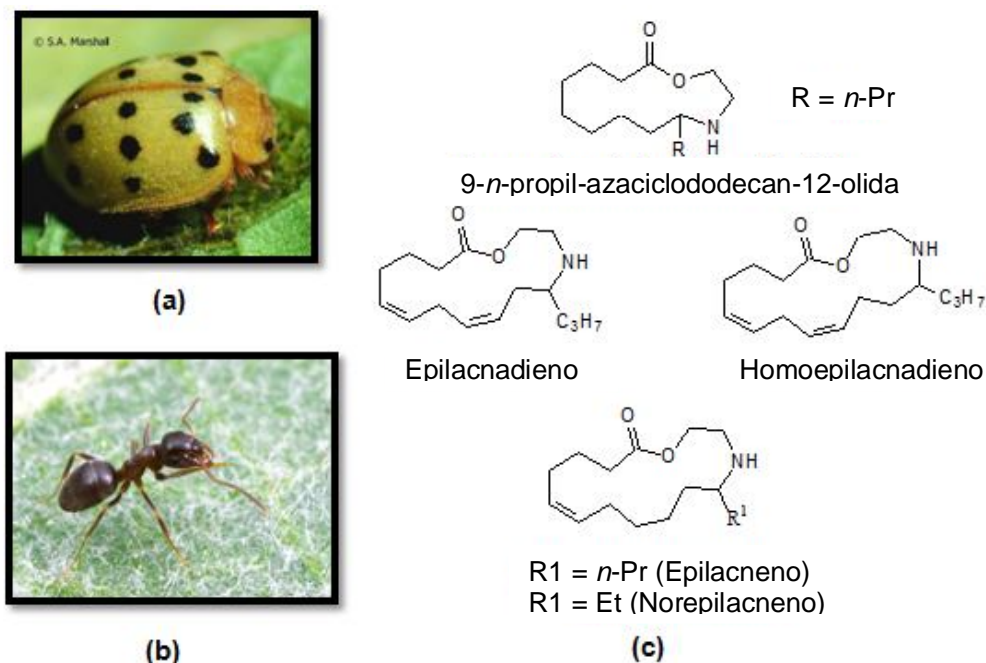


Figura 2 – *Epilachna varivestis* (a), *Lasius niger* (b) e as macrolactonas produzidas pelo besouro (c)

As flores de *Dracula chestertonii* (figura 4) emitem compostos semelhantes aos de alguns cogumelos, atraindo fêmeas de moscas de fungo, *Bradysia spp.* – que ovipositam nestes cogumelos que são as fontes alimentares das larvas. Ao visitarem

as flores de *Dracula chestertonii*, as moscas agem como polinizadores; as larvas, entretanto, morrem por escassez de alimento logo após eclodirem.¹⁹



Figura 3 - *Myrmecaphodius excavaticollis* (a) e *Solenopsis ritcheri* (b)



Figura 4 - *Dracula chestertonii* (a) e *Bradysia praecox* (b)

Alguns alomônios são utilizados para a atração de presas, como no caso das aranhas-bola, do gênero *Mastophora*, (figura 5) que produzem e lançam nos insetos que passam próximos a ela uma bola pegajosa de seda – processo facilitado devido ao fato que estas aranhas produzem compostos semelhantes aos feromônios sexuais das espécies de mariposas que são suas presas.²⁰

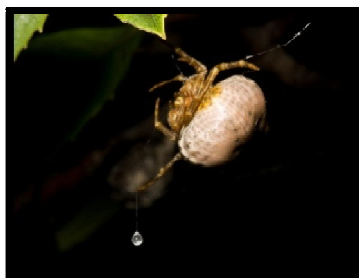


Figura 5 – Aranha-bola projetando uma esfera de seda

I.1.1.1.2 Cairomônios

Cairomônios são substâncias químicas emitidas por um organismo que induz respostas comportamentais ou fisiológicas benéficas a outro organismo de outra espécie – o receptor da informação.

O parasitóide *Aphidius ervi* mostra uma forte resposta a compostos presentes na secreção de pulgões-da-ervilha, *Acyrtosiphon pisum*, (figura 6) e a presença destes cairomônios é suficiente para induzir o comportamento de oviposição.²¹

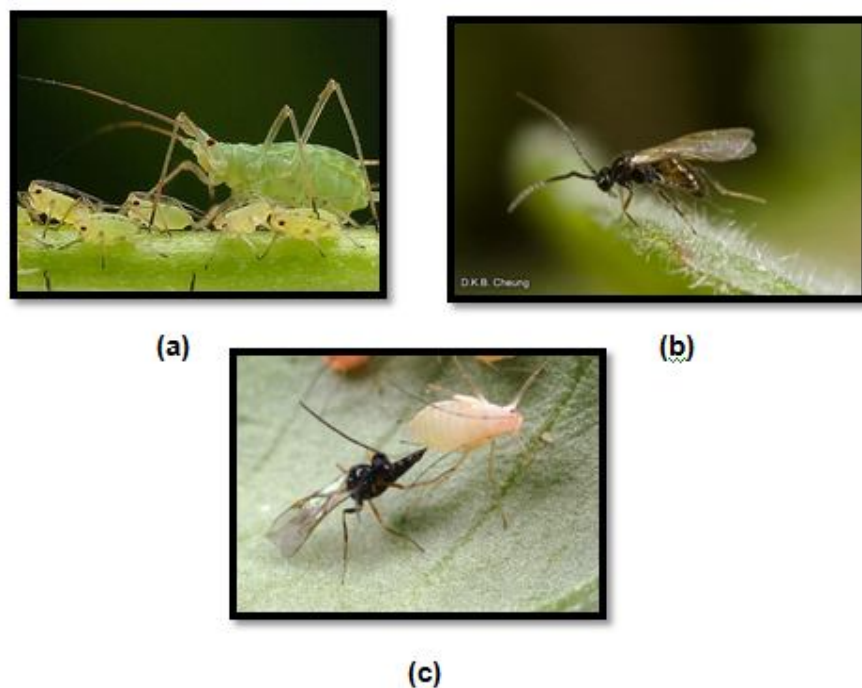


Figura 6 – O pulgão-da-ervilha, *Acyrtosiphon pisum* (a), o parasitóide *Aphidius ervi* (b) e o ataque da vespa ao pulgão (c)

Besouros *Scolytus spp.* respondem ao α -cubebeno, produzido por árvores de Olmo quando atacadas pelo fungo *Ceratosystis ulmi* (figura 7) – que podem ser inoculados pelo próprio besouro. As agregações induzidas por feromônios do inseto só acontecem quando o cairomônio (α -cubebeno) indica a possibilidade da colonização, por se tratar de uma árvore enfraquecida.²²

Mirceno, o terpeno produzido por *Pinus ponderosa* quando danificado por *Dendroctonus brevicomis*, age sinergisticamente com o feromônio de agregação do inseto, atraindo ainda mais insetos para a planta (figura 8).²³

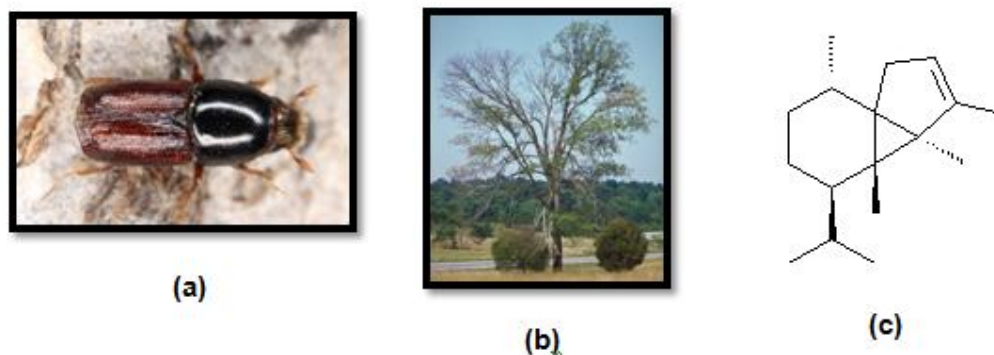


Figura 7 – *Scotylus multistriatus* (a), árvore de olmo atacada pelo fungo (b) e α -cubebeno (c)

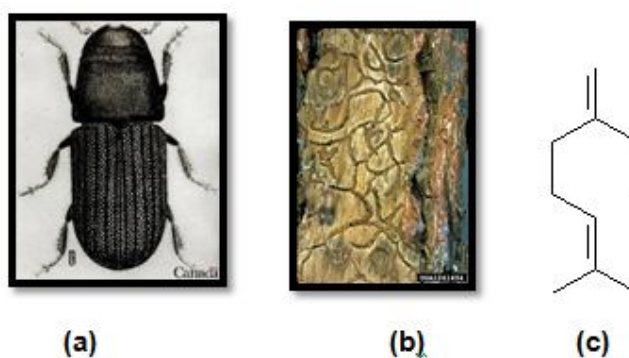


Figura 8 – *Dendroctonus brevicomis* (a), árvore de *Pinus ponderosa* atacada pelo inseto (b) e o cairomônio envolvido na interação, mirceno (c)

Insetos, parasitóides e predadores, também podem utilizar feromônios de outros insetos para reconhecê-los como hospedeiros ou presas, como a joaninha *Adalia bipunctata* (figura 9), que reconhece suas presas, os afídeos *Myzus persicae* e *Acyrtosiphon pisum*, através do feromônio de alarme destas espécies, (*E*)- β -farneseno.²⁴

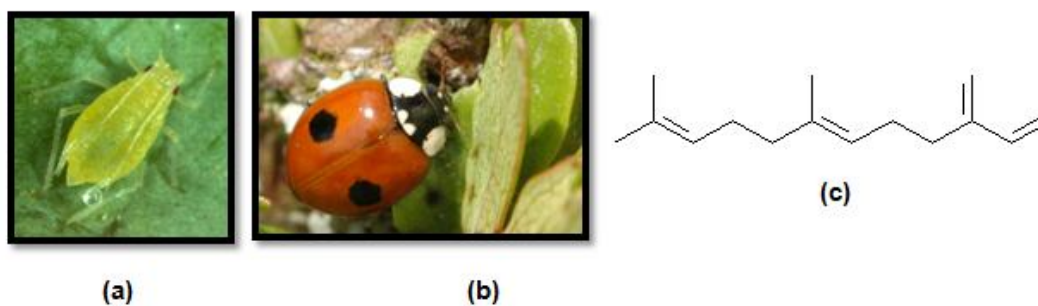


Figura 9 – *Myzus persicae* (a), *Adalia bipunctata* (b) e (*E*)- β -farneseno (c)

I.1.1.1.3 Sinomônios

Classe de aleloquímico pertinente à biologia de um organismo (emissor) que, quando em contato com um indivíduo (receptor) de outra espécie, evoca neste último uma resposta fisiológica ou comportamental favorável a ambos os indivíduos.

Exemplos típicos de sinomônios são os odores florais. A orquídea *Bulbophyllum cheiri* (figura 10) produz o composto metil-eugenol, responsável pela atração de moscas da fruta do gênero *Bactrocera* (*B. carambolae*, *B. papayae* e *B. umbrosa*). Os voláteis florais beneficiam as plantas por atraírem os polinizadores e estes se beneficiam por garantir sítios de alimentação e localização de parceiros para o acasalamento.²⁵

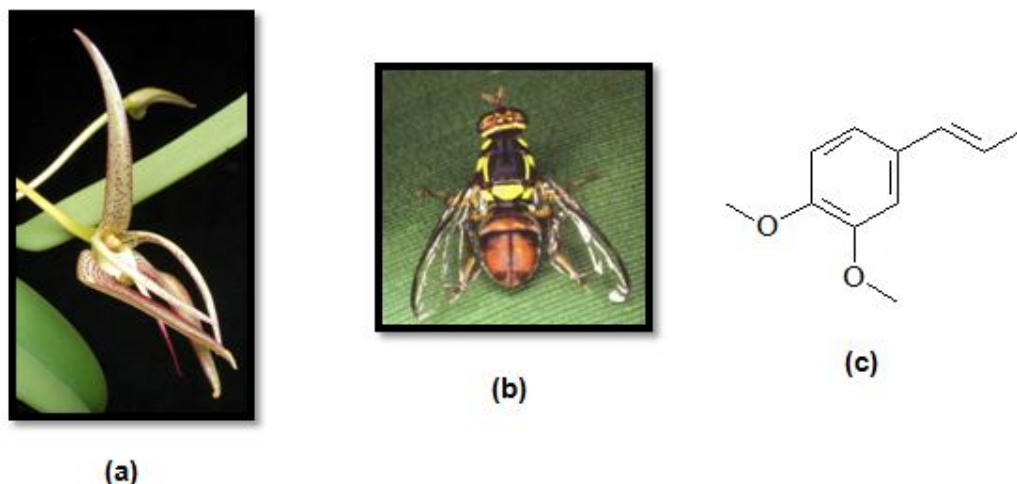


Figura 10 – *Bulbophyllum cheiri* (a), *Bactrocera papayae* (b) e Metil-chavicol (c)

Outro exemplo é a interação entre formigas e afídeos. Nesta interação, as formigas recebem uma mistura de açúcares secretados pelos afídeos, conhecido como “honeydew”, enquanto protegem os pulgões (figura 11). Algumas espécies de formigas respondem ao feromônio de alarme dos simbiontes, orientando-se até a fonte do odor e atacando os predadores.²⁶

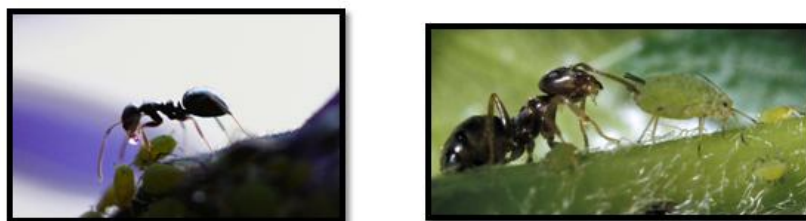


Figura 11 – Formigas recebendo a secreção açucarada “honeydew”

I.1.1.2 Feromônios

Os feromônios constituem a classe de semioquímicos mais estudada e são definidos como substâncias secretadas por um indivíduo para o exterior e recebida por um segundo indivíduo da mesma espécie, provocando uma reação específica (comportamento definido) ou um processo de desenvolvimento fisiológico.²⁷ O termo surge da combinação das palavras gregas *pherein* (carregar) e *horman* (estimular).

Os feromônios podem ser definidos, mais abrangentemente, como infoquímicos mediadores de uma interação entre organismos da mesma espécie (ação intraespecífica), produzindo uma resposta comportamental ou fisiológica adaptativa favorável ao emissor, ao receptor ou ambos os organismos envolvidos na interação.

I.1.1.2.1 Feromônios de Agregação

Estas substâncias liberadas por um organismo provocam a agregação de indivíduos da mesma espécie para uma atividade específica (alimentação, reprodução ou hibernação).

Um exemplo de feromônio de agregação é o (*Z*)-2-hexenoato de (*E*)-3-decenila, componente majoritário da mistura feromonal do besouro *Rosalia funebris*, espécie endêmica do oeste da América do Norte (figura 12). As larvas desta espécie se alimentam da madeira de árvores dos gêneros *Alnus*, *Fraxinus*, *Quercus*, *Salix* e *Umbellularia*.²⁸

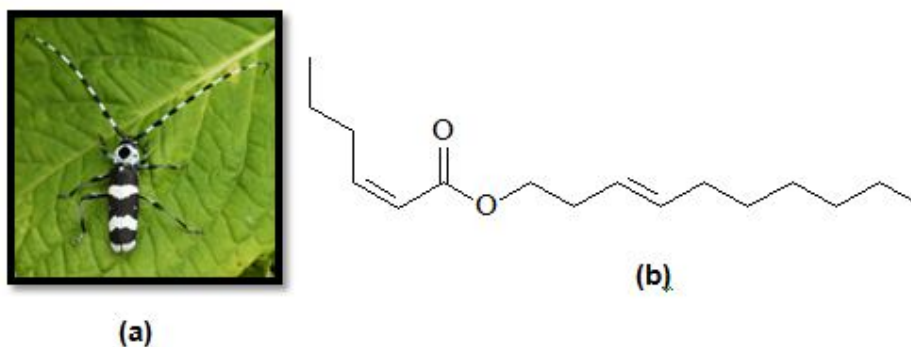


Figura 12 – *Rosalia funebris* (a) e seu feromônio de agregação, (*Z*)-2-hexenoato de (*E*)-3-decenila (b)

I.1.1.2.2 Feromônios de Alarme

Os feromônios de alarme são compostos extremamente voláteis – o que lhes confere dispersão rápida e curta duração – que são usados principalmente por insetos com estrutura social organizada em situações de perigo.

A vespa *Vespa mandarinia* libera uma mistura de compostos – 2-pentanol, 3-metil-1-butano e 3-metil-butanoato de 1-metil-butila – quando em perigo (figura 13). Estes compostos atraem outras vespas, que atacam o predador.

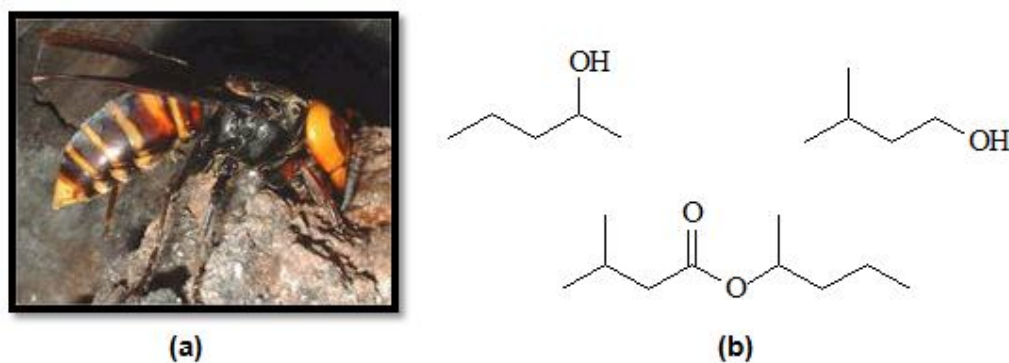


Figura 13 – *Vespa mandarinia* (a) e seus feromônios de alarme, 2-pentanol, 3-metil-1-butano e 3-metil-butanoato de 1-metil-butila (b)

I.1.1.2.3 Feromônios de Marcação de Território

Os feromônios de marcação de território são usados por insetos com estrutura social organizada para marcar uma área específica onde a colônia está estabelecida, identificar a entrada do ninho e diferenciar ninhos de colônias diferentes.

Compostos exalados pela glândula de Dufour de operárias da formiga-cortadeira (*Atta laevigata*) – heptadecano, 8,11-nonadecadieno, (Z)-9-nonadeceno e (Z)-9-tricosaeno – são utilizados para marcação de território (figura 14).

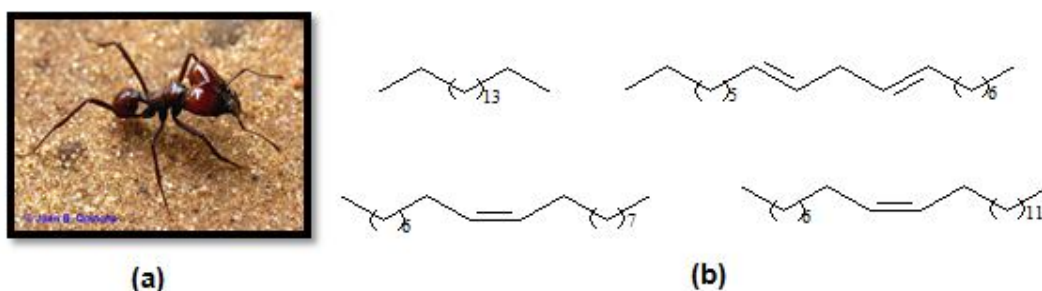


Figura 14 – Soldado de *Atta laevigata* (a) e feromônios de marcação de território (b)

I.1.1.2.4 Feromônios de Necroforese

Também conhecidos como feromônio funeral, os feromônios de necroforese são utilizados por algumas espécies de formigas para a remoção de indivíduos mortos ou qualquer outra matéria em decomposição da colônia. Por exemplo, formigas do gênero *Atta* coloca seus mortos em câmaras especiais do formigueiro.²⁹

As operárias das espécies *Pogonomyrmex badius* e *Solenopsis invicta* têm o comportamento de necroforese desencadeado pelo ácido oléico (figura 15). Quando formigas vivas são contaminadas com ácido oléico, são tratadas como indivíduos mortos.^{30, 31}

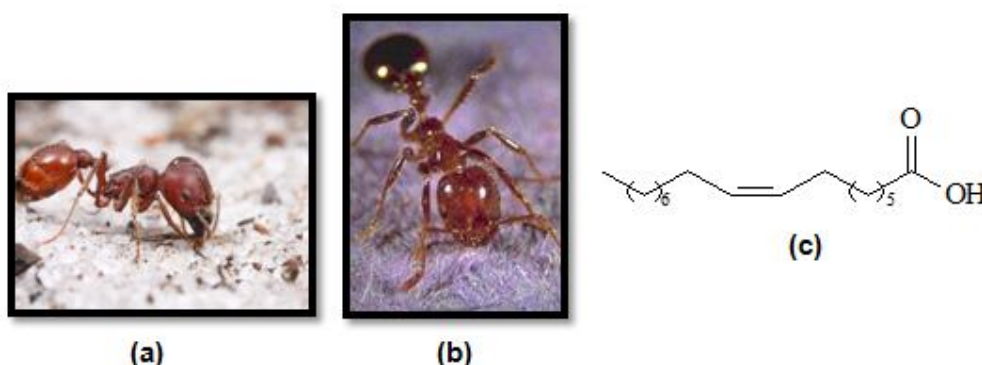


Figura 15 – *Pogonomyrmex badius* (a) *Solenopsis invicta* (b) e ácido oléico (c)

I.1.1.2.5 Feromônios de Oviposição

Os feromônios de oviposição, que são geralmente liberados por indivíduos imaturos, têm a função de atrair as fêmeas grávidas para um lugar já selecionado como criadouro por indivíduos da mesma espécie.

As larvas de *Aedes aegypti*, o principal vetor da dengue e da febre-amarela, produzem o composto *n*-heneicosano, que atrai as fêmeas grávidas da espécie induzindo comportamento de oviposição (figura 16). Entretanto, quando a concentração é muito alta, este composto age como repelente.³²

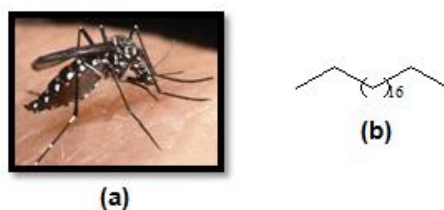


Figura 16 – *Aedes aegypti* (a) e *n*-heneicosano (b)

I.1.1.2.6 Feromônio Preparador

Estes feromônios agem na fisiologia do organismo, gerando uma resposta mais lenta e prolongada que os outros feromônios. Estão relacionados a insetos com sociedade organizada, como as abelhas e as formigas.

As rainhas das formigas da espécie *Lasius niger* produzem o hidrocarboneto 3-metilhentriacontano, que inibe o desenvolvimento dos ovários das formigas operárias (figura 17). Quando o efeito deste feromônio diminui ou cessa, ocorre o desenvolvimento dos ovários das operárias, resultando no surgimento de novas rainhas na colônia.³³

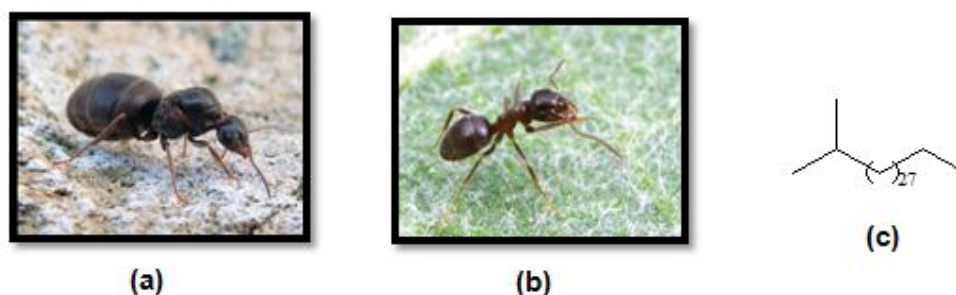


Figura 17 – Rainha (a) e operária (b) de *Lasius niger* e seu feromônio preparador (c)

I.1.1.2.7 Feromônio de Marcação de Trilha

Este tipo de feromônio tem o propósito de orientar os insetos de uma colônia em direção a uma fonte de alimento. Estes feromônios são liberados por um primeiro indivíduo e, então, detectados pelos outros indivíduos da colônia.

Apesar de sempre associados com formigas, os feromônios de marcação de trilha também são produzidos por outros insetos sociais. As abelhas *Trigona recursa* utilizam o decanoato de hexila como feromônio de marcação de trilha, para orientar as operárias no caminho entre a colméia e a fonte de alimento.³⁴

I.1.1.2.8 Feromônio Sexual

Os feromônios sexuais são substâncias emitidas por um indivíduo (macho ou fêmea) para atrair o sexo oposto, com o propósito do acasalamento. Este tipo de infoquímico é uma ferramenta importante para o controle de insetos-praga.

Muitos são os exemplos de feromônios sexuais identificados de insetos pertencendo à ordem *Coleoptera*, evidenciando a importância destes compostos e mostrando uma grande diversidade estrutural.

O escaravelho *Phyllophaga anxia*, uma das espécies mais amplamente distribuídas do gênero e uma importante praga das plantações de oxicoco nos EUA e Canadá, teve sua mistura feromonal identificada por Zhang e colaboradores, apresentando dois compostos majoritários (figura 18).³⁵

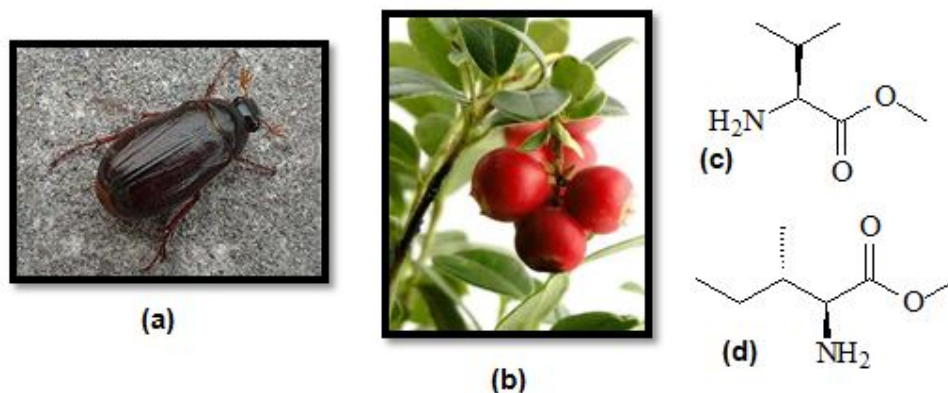


Figura 18 – *Phyllophaga anxia* (a), planta de oxicoco (b), e os feromônios sexuais (S)-2-amino-3-metilbutanoato de metila (c) e (2S,3S)-2-amino-3-metilpentanoato de metila (d)

Fukaya e colaboradores identificaram como componente majoritário da mistura feromonal de contato do besouro *Psacotha hilaris* o composto (*Z*)-21-metil-8-pentatriaconteno (Figura 19), uma praga importante da figueira e da amoreira. Tal inseto é endêmico na Ásia e foi recentemente encontrado na Itália (2005) e na Inglaterra (2008).³⁶



Figura 19 – *Psacotha hilaris* (a) e seu feromônio sexual, (*Z*)-21-metil-8-pentatriaconteno (b)

O besouro oriental, *Anomala orientalis*, é uma espécie nativa da Ásia e foi introduzido nos Estados Unidos, onde se tornou uma praga em vários estados da costa leste. Zhang e colaboradores identificaram como feromônios sexual uma mistura

de (Z)- e (E)-7-tetradecen-2-ona (Figura 20), em uma relação de 9:1. Os compostos são produzidos pelas fêmeas da espécie.³⁷

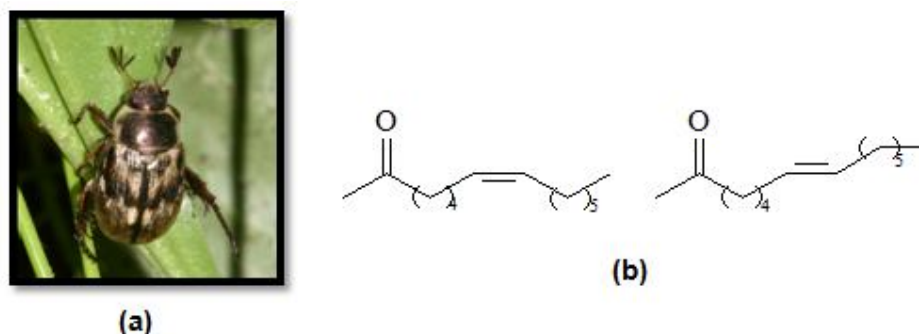


Figura 20 – *Anomala orientalis* (a) e seus feromônios sexuais (b)

I.1.1.3 Infoquímicos induzidos por alimentação e/ou oviposição

As plantas podem responder tanto para alimentação quanto oviposição de insetos herbívoros. As plantas que demonstram ter respostas defensivas para oviposição reagem nas etapas iniciais do ataque, a deposição dos ovos.

A resposta defensiva pode ser direta, por formação de neoplasias, formação de tecido necrótico (resposta de hipersensibilidade) ou produção de meios de dissuasão da oviposição, tendo efeitos negativos nos ovos, larvas ou fêmeas ovipositando.³⁸ Respostas indiretas para os ataques resultam na emissão de voláteis (sinomônios) que atraem inimigos naturais dos insetos.³⁹

Um exemplo típico seria dos voláteis emitidos pelo milho *Zea mays* que, quando atacado por herbívoros (lagartas da mariposa *Spodoptera exigua*), atraem fêmeas da vespa *Cortesia marginiventris*, que é um parasitóide natural destas lagartas (figura 21).⁴⁰

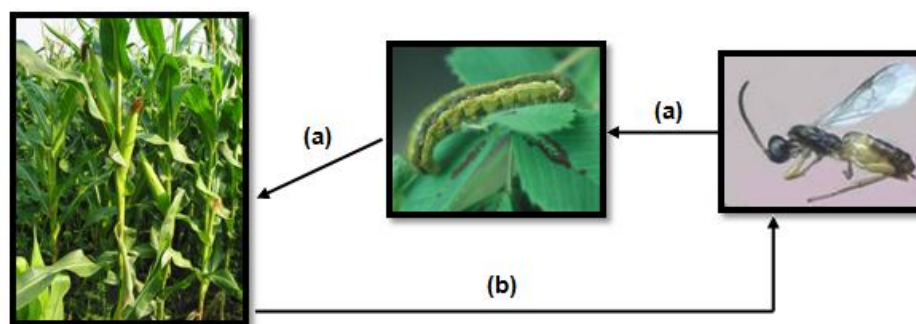
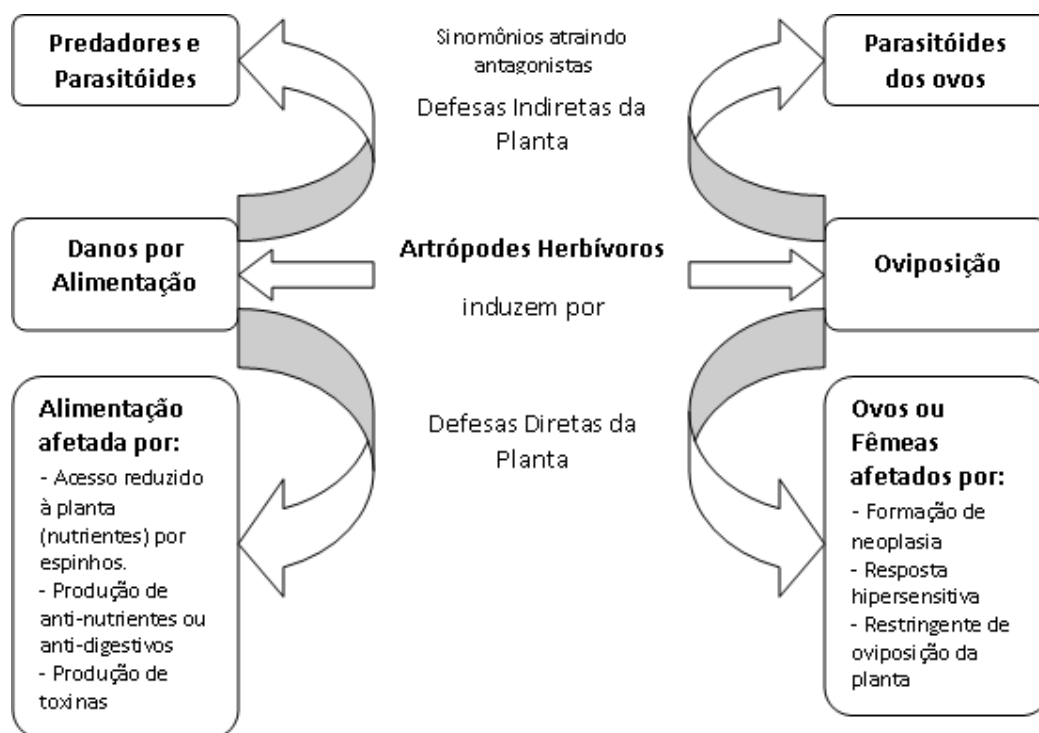


Figura 21 – Interação tritrófica entre *Zea mays*, *Spodoptera exigua* e *Cortesia marginiventris*: predação (a) e atração (b)



Esquema 1 – Tipo de dano causado *versus* defesa da planta

No entanto, alguns compostos induzidos por ataques de insetos podem agir como caimônios e ter efeito sinérgico com feromônios exalados pelos insetos. Estudos identificaram o aumento significativo na produção de voláteis produzidos pela planta *Vicia faba*, especialmente acetato de hexila, (Z)- β -ocimeno e (E)- β -ocimeno, entre outros, quando atacados por fêmeas de *Lygus rugulipennis*, para a alimentação e postura de ovos (figura 22). Estes compostos são utilizados pelos insetos para a localização dos hospedeiros.⁴¹

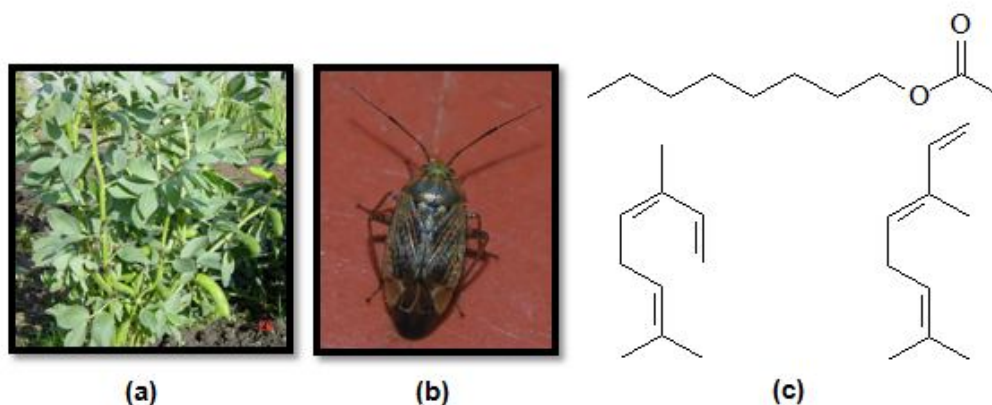


Figura 22 – *Vicia faba* (a), *Lygus rugulipennis* (b) e os compostos utilizados na comunicação química (c)

Mirceno, o terpeno produzido por *Pinus ponderosa* quando danificado por *Dendroctonus brevicornis* age sinergisticamente com o feromônio de agregação do inseto, o que atrai mais insetos para a planta.⁴²

1.1.1.4 Infoquímicos aplicados ao Manejo Integrado de Pragas

As pragas afetam a sociedade como um todo e são definidas como uma espécie que, em determinado nível populacional, interfere com o bem estar e/ou lucro econômico do homem.

A partir de 1942, com a descoberta das propriedades inseticidas do 1,1,1-tricloro-2,2-bis-(*p*-clorofenil)etano (DDT), uma quantidade elevada de hidrocarbonetos clorados foram despejados em inúmeras culturas, almejando a destruição dos insetos (figura 23). Inicialmente esta prática teve sucesso; porém, com o passar dos anos, percebeu-se que tais compostos sofriam degradação lenta por processos naturais, além de gradativamente acumular-se nos tecidos adiposos da maioria dos animais. Na década de 70 estes compostos tiveram seu uso proibido por possíveis riscos à vida humana, com suspeita de ação carcinogênica.⁴³

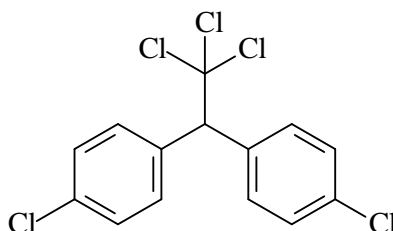


Figura 23 – 1,1,1-tricloro-2,2-bis(*p*-clorofenil)etano (DDT)

Devido aos problemas acarretados com o uso de agroquímicos, em meados dos anos 50 pesquisadores começaram a criar mecanismos de integração de estratégias e táticas para o controle de determinada praga. A estes mecanismos foi dado o nome de Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Como parte destas estratégias, pode-se citar os infoquímicos que, naturalmente, são produtos muito pouco tóxicos e atuam somente sobre o comportamento dos organismos alvos. Por isso, têm papel fundamental no controle de insetos-praga, podendo acarretar em uma diminuição significativa do uso de agroquímicos.

A utilização de infoquímicos tem contribuído para o controle de pragas agrícolas e florestais, como parte da interação de métodos químicos e biológicos.⁴⁴

Feromônios sexuais e de agregação são frequentemente empregados devido a maior eficiência na captura de insetos em campo, embora kairomônios também possam ser utilizados. Tal metodologia tem sido utilizada em momentos estratégicos procurando garantir a produção de alimentos, até certo ponto, livre de pragas e agroquímicos.

Para se explorar, com sucesso, a potencialidade do emprego de infoquímicos como uma efetiva metodologia de controle de pragas, faz-se necessário a determinação da mistura ou da substância atraente para o inseto-alvo, o controle da pureza e as condições de sua aplicação no campo.⁴⁵

É de importância singular para o Brasil deter tecnologia própria que permita aumentar o arsenal de metodologias alternativas para o controle de pragas, o que deverá facilitar a colocação de nossos produtos no mercado internacional, cujas tendências apontam para uma crescente exigência do compromisso com a preservação do meio ambiente e com a qualidade dos produtos.⁴⁶

1.2 *Pinus spp.*

Pinus é um gênero de árvores, que compreende 105 espécies que são componentes importantes e, frequentemente, dominantes da vegetação em grandes extensões de terra do hemisfério norte.⁴⁷ Além de sua madeira e frutos serem produtos de grande valor econômico, árvores do gênero *Pinus* influenciam ecossistemas de várias maneiras: afetam processos bioquímicos e regimes hidrológicos, além de fornecerem comida e criar habitats para animais. *Pinus* também são cultivados em várias partes do mundo, tanto dentro quanto fora do seu habitat natural.⁴⁸

No Brasil, árvores de *Pinus*, principalmente as espécies *Pinus taeda* e *Pinus elliottii*, são plantadas em escala comercial há mais de 30 anos,⁴⁹ sendo que atualmente existem cerca de 2 milhões de hectares reflorestados com *Pinus*, em extensas áreas contínuas e geralmente em plantios de base genética restrita. Nas regiões Sul e Sudeste concentram-se cerca de 1,2 milhões de hectares de plantios de *pinus*, principalmente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Minas Gerais.⁵⁰ O produto destes plantios destina-se, principalmente, à indústria madeireira e de papel e celulose.⁵¹

Após um longo período sem ocorrência de pragas, em 1988 foi registrada a presença da vespa-da-madeira, *Sirex noctilio* (F., 1793), colocando em risco os plantios de *Pinus* do país, decorrente da baixa resistência ambiental, alimento abundante e ausência de controle, favorecendo a praga e provocando perdas

econômicas.⁵² Outra praga introduzida foram os afídeos *Cinara atlantica*⁵³ e *Cinara pinivora*⁵⁴ (figura 24), que ocorrem desde 1996 e estão amplamente distribuídos nas regiões produtoras de pinus.

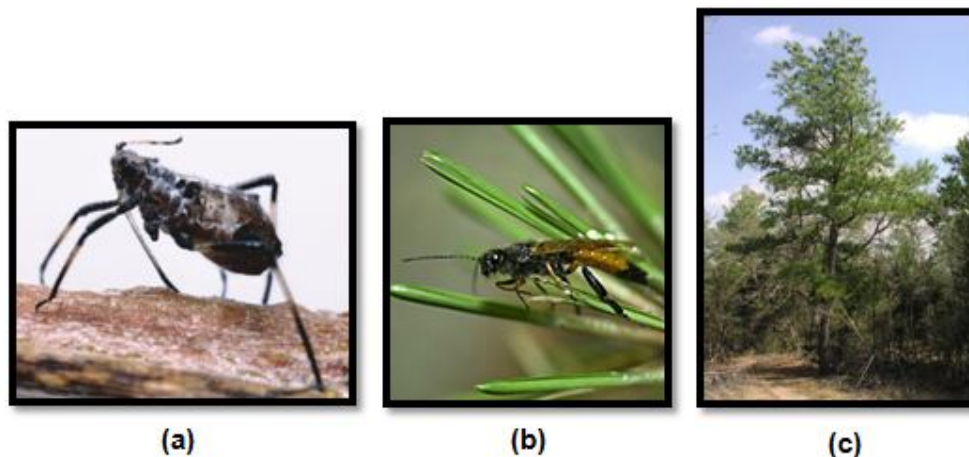


Figura 24 – O pulgão-gigante-do-pinus, *Cinara pinivora* (a), e *Sirex noctilio* (b), pragas do *Pinus* (c)

Mais recentemente, em 2001, foi detectado o gorgulho-da-casca-do-pinus, *Pissodes castaneus* (De Geer, 1775), no município de São José dos Ausentes, Rio Grande do Sul. No mesmo ano, foi detectado também em Curitibanos, Santa Catarina, e em Pinhão, Paraná, em árvores jovens de *P. taeda* (2 a 6 anos).⁵⁰

1.2.1 *Pinus caribaea*

Natural do Novo Mundo, encontrado naturalmente na Nicarágua, Honduras, Belize, Guatemala, Cuba e Bahamas, é a espécie de *Pinus* tropical de mais ampla distribuição.⁵⁵ Pertence ao subgênero *Pinus*, seção *Trifoliaea* e subseção *Australes*.

Plantada comercialmente nas regiões tropicais e subtropicais das Américas, Ásia e África, por ser uma árvore de rápido crescimento e de madeira versátil. Sob boas condições, pode atingir 45m de altura e 135cm de diâmetro.⁵⁶

1.2.2 *Pinus elliotii*

Uma das espécies de *Pinus* mais plantadas comercialmente no Brasil, especialmente no Sul e Sudeste, *P. elliotii* é natural dos Estados Unidos, encontrado nos estados da Flórida, Carolina do Sul, Geórgia, Alabama, Mississippi e Louisiana.⁵⁷ Pertence ao subgênero *Pinus*, seção *Trifolia*, subseção *Australes*

Devido ao seu rápido crescimento, é plantada comercialmente na África, Austrália e América do Sul, visando a indústria de papel e celulose. No Brasil, é utilizada pela indústria de produção de resinas. As árvores desta espécie variam de 18 a 30m de altura e cerca de 60cm de diâmetro, podendo chegar até 36m de altura e 90cm de diâmetro.⁵⁸

1.2.3 *Pinus maximinoi*

P. maximinoi é uma espécie natural de El Salvador, Guatemala, Honduras e Nicarágua e México em altitudes de 600 a 2.400m.⁵⁹ No Brasil, tem a sua área de plantação limitada na região Sul, devido à ocorrência de geadas severas. Pertence ao subgênero *Pinus*, seção *Trifolia*, subseção *Ponderosae*.

É uma árvore que atinge grandes dimensões: até 35m de altura e 100cm de diâmetro. No Brasil, sua cultura está em fase experimental, mas demonstra um alto incremento volumétrico nas plantações.⁶⁰

1.2.4 *Pinus patula*

Espécie de *Pinus* originária do Novo Mundo, ocorre naturalmente principalmente no México, em regiões com altitudes entre 1.500 e 3.100m, ao longo da Sierra Madre oriental. Apresenta o melhor desenvolvimento em solos úmidos e bem drenados. Pertence ao subgênero *Pinus*, seção *Trifolia*, subseção *Oocarpe*.⁶⁰

Árvores com altura de 35 a 40m com diâmetro de até 100cm⁶¹. No Brasil, o melhor desenvolvimento se observa em regiões de grande altitude (900m ou mais), como na Serra da Mantiqueira, Sudoeste do Paraná, Oeste de Santa Catarina e Nordeste do Rio Grande do Sul.⁶⁰

1.2.5 *Pinus taeda*

A espécie de pinus mais comumente plantada no Brasil, *P. taeda*, é considerada a espécie de *Pinus* ideal para reflorestamentos, uma vez que é resistente, versátil, com capacidade para se reproduzir e crescer em diversos lugares, além de um bom rendimento por hectare.

Esta espécie de pinus cresce naturalmente combinada com *P. palustris*, *P. echinata* e *P. elliottii* e é a espécie predominante em mais de 13,4 milhões de hectares nos EUA, na região entre o Texas, Florida e Delaware. As árvores de *P. taeda* alcançam a maturidade por volta dos 80 anos e raramente vive além dos 300, mesmo

sob as melhores condições.⁶² Esta espécie pertence ao subgênero *Pinus*, seção *Trifolia*, subseção *Australes*.

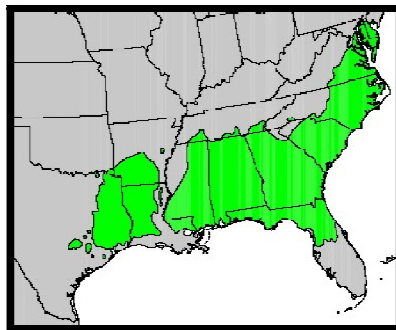


Figura 25 – Área natural de *P. taeda*

As árvores desta espécie medem entre 35-45m de altura e com diâmetro de 100 a 150cm.⁶¹ Como as temperaturas da região de origem desta planta são mais baixas (entre 13 e 24°C, podendo chegar a extremos de -23°C), esta espécie se adaptou bem à região Sul, que tem clima fresco e inverno frio, com bastante umidade durante todo o ano, assim como o sul dos estados de São Paulo e Minas Gerais.⁶⁰

I.3 Curculionidae

Os curculionídeos são besouros da superfamília Curculionoidea, com cerca de 60.000 espécies catalogadas.⁶³ Os adultos desta família são facilmente reconhecidos pela cabeça prolongada em um rostro, assim como antenas genículo-clavadas.⁶⁴ Em sua maioria são fitófagos, tanto na fase larval quanto na fase adulta.⁶⁵ Os adultos desta família têm entre 0,3 a 5cm de comprimento e são marrons, cinzas, pretos ou, em poucos casos, verdes. Na maioria dos casos, o corpo é coberto por escalas.⁶⁶

Muitas espécies são importantes pragas de diversas culturas, bem como de grão armazenados; a necessidade constante de medidas de controle mais efetivas e seguras ao meio ambiente tem exigido da comunidade científica a busca por novos métodos de controle para minimizar o impacto destes insetos.⁶⁷

I.3.1 Infoquímicos de Curculionidae

A maioria dos feromônios relatados para curculionidae é produzida pelos machos e são feromônios de agregação.

Eller e Bartelt isolaram e sintetizaram o feromônio de agregação de *Conotrachelus nenuphar*, uma importante praga nos pomares de maçã na América do

Norte. O composto identificado como feromônio desta espécie foi o ácido 2-((1*R*,2*S*)-1-metil-2-(prop-1-em-2-il)ciclobutil)acético, também chamado de ácido grandisóico, por ter a estrutura análoga ao grandisol (figura 26).⁶⁸

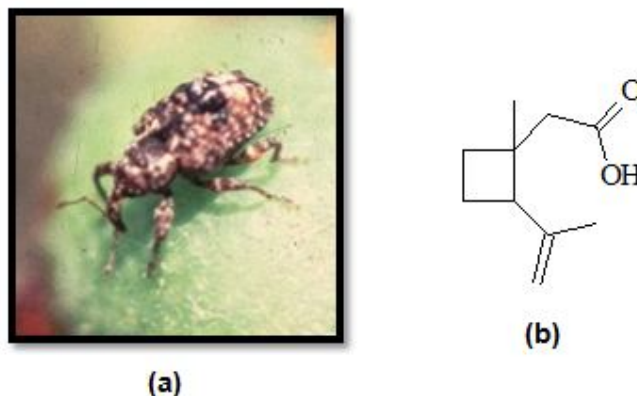


Figura 26 – *Conotrachelus nenuphar* (a) e o ácido grandisóico (b)

Sitona lineatus é uma praga importante de leguminosas na Europa e América do Norte. Os danos principais são causados pelas larvas, destruindo os nódulos radiculares e, portanto, diminuindo a capacidade fixadora de nitrogênio das plantas. Blight e colaboradores identificaram o feromônio de agregação produzido pelos machos desta espécie como sendo o 4-metil-heptano-3,5-diona (figura 27).⁶⁹

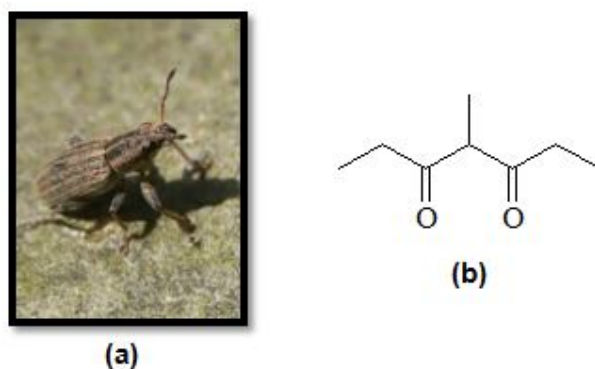


Figura 27 – *Sitona lineatus* (a) e 4-metil-heptano-3,5-diona (b)

1.4 *Pissodes* spp.

O gênero *Pissodes* compreende espécies que são, em geral, importantes pragas florestais. Os adultos têm a aparência similar para todas as espécies: entre 4 e 8 mm, coloração marrom-claro avermelhado a marrom-escuro e com os élitros marcados com manchas brancas.

Os danos causados por *Pissodes spp.* é importante em plantações de reflorestamento, onde árvores com menos de 1 metro podem ser mortas devido ao ataque. Em árvores maiores, a alimentação das larvas geralmente mata o broto terminal, que são substituídos por brotos laterais, causando uma multifurcação na árvore, que perde crescimento e qualidade da madeira.⁷⁰

Há vários parasitóides das larvas e pupas de *Pissodes spp.* conhecidos, geralmente *Eubazus spp.* e *Coleoides spp.* Em geral, o parasitismo em *Pissodes spp.* é em uma escala maior que as outras espécies conhecidas, o que pode ser explicado pela acessibilidade aos ovos e larvas nas puncturas geradas pela alimentação dos insetos.⁷¹

I.4.1 Infoquímicos de *Pissodes spp.*

Até o momento, foram identificados feromônios em apenas três espécies de *Pissodes*.

Machos de *P. approximatus*, *P. nemorensis* e *P. strobi* produzem grandisol e grandisol, que têm sua atividade feromonal aumentada quando junto da sua planta hospedeira.⁷² Hibbard e Webster determinaram que *P. nemorensis* produz o (1*S*,2*R*)-grandisol e o (1*R*,2*S*)-grandisol, enquanto *P. strobi* produz uma mistura de 60:40 de (1*R*,2*S*)- e (1*S*,2*R*)-grandisol e o (1*R*,2*S*)-grandisol.⁷³ Todas estas espécies produzem estes compostos como feromônios de agregação.

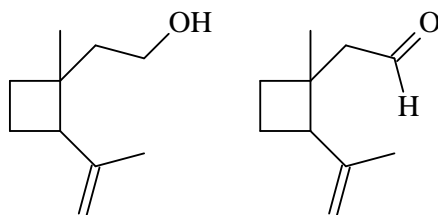


Figura 28 – grandisol e grandisol

I.4.2 *Pissodes castaneus*

O gorgulho-da-casca-do-pinus, *Pissodes castaneus*, é um inseto originário da Europa e do Norte da África e foi detectado no Brasil em 2001, nos municípios de São José dos Ausentes, Rio Grande do Sul, Curitiba, Santa Catarina, e Pinhão, Paraná, e hoje encontra-se disperso por toda a região Sul do país, em plantios de *P. taeda* com idade variando entre 2 e 6 anos.⁵⁰

Os adultos (figura 29) possuem de 6 a 9 mm de comprimento, corpo com forma oblonga de coloração marrom avermelhada; a cabeça se prolonga em um rostro e as antenas são geniculadas. Os élitros apresentam quatro manchas transversais amareladas que são unidas por uma faixa longitudinal esbranquiçada. Para realizar a postura, as fêmeas fazem, com a mandíbula, pequenos orifícios na casca de 2 a 2,5 mm de profundidade, e depositam seus ovos isoladamente ou em grupos de 2 ou 3 ovos por orifício.⁷⁴



Figura 29 – Adulto de *P. castaneus*

O inseto apresenta ampla distribuição geográfica, com registros na Europa (Alemanha, Áustria, Bélgica, Dinamarca, Espanha, Ilhas Canárias, Finlândia, França, Grécia, Holanda, Hungria, Itália, Noruega, Polônia, Portugal, Romênia e Suíça), no Norte da África (Argélia)⁷⁵ e na América do Sul (Argentina e Uruguai)⁷⁶ e, mais recentemente, no Brasil.⁵⁰ Seus hospedeiros são coníferas da família *Pinaceae*: *Abies* spp., *Pinus* spp. (*P. contorta*, *P. pinaster*, *P. halepensis*, *P. taeda*, *P. nigra*, *P. sylvestris*, *P. elliotii*, *P. canariensis*, *P. pinea* e *P. radiata*) e *Pseudotsuga menziesii*.⁷⁵

Na região de origem, o inseto tem um ciclo biológico complexo e os adultos vivem até 20 meses. A oviposição, que é realizada sob a casca, ocorre entre meados da primavera ao início do verão e no final do verão ao início do outono. O período larval dura cerca de dois meses, na França e Espanha.⁷⁷ No sul da Europa, o inseto apresenta dois períodos de postura anuais; em climas mais frios, no entanto, ocorre uma geração a cada dois anos.⁷⁸ Durante o inverno, as larvas hibernam no ramo atacado enquanto os adultos hibernam escondidos no solo ou em ranhuras da casca.

O principal dano é causado pelas larvas (figura 30), que se alimentam da região do câmbio e da casca, onde formam uma galeria preenchida com excrementos e fibras finas de madeira. As árvores atacadas pelas larvas apresentam coloração

marrom-avermelhada na parte superior da copa e também puncturas na casca. Geralmente o ataque causa a morte da árvore.



Figura 30 – Danos causados pelas larvas de *P. castaneus*

Um dano secundário é causado pelos adultos, que se alimentam do broto terminal (gema apical). O inseto mata os brotos, causando perdas de crescimento e multifurcação. Normalmente, as árvores são atacadas somente se um novo ponteiro é formado; entretanto a repetição do ataque abaixo do ponteiro morto ocorre ocasionalmente. Mais de 50% das árvores de um talhão podem ser atacadas em um ano.⁷⁹ As árvores com os ponteiros atacados apresentam sintomas de murcha e clorose nas acículas, além de um pequeno entortamento; partes da casca tendem a soltar-se devido à seca do tronco e a morte progressiva da árvore, do ápice para a base.⁸⁰

Os métodos de controle de *P. castaneus* podem ser químicos, biológicos, culturais ou microbianos, contribuindo para a redução do ataque e dano da praga. Contudo, nem sempre são viáveis em termos econômicos ou ambientais. O controle biológico apresenta grande potencial em plantios florestais. Na França ocorrem várias espécies de himenópteros parasitóides, sendo que os principais pertencem à família *Braconidae*, *Chalcididae* e *Ichneumonidae*, que são parasitóides dos ovos e larvas de *P. castaneus*. A taxa de parasitismo pode chegar a variar de 20% a 30%.⁸¹

O controle químico é realizado esporadicamente, na região de origem, com aplicações aéreas de inseticidas.⁸² Apesar de o inseto ser vulnerável a vários produtos químicos, há dificuldades para a realização deste controle, pois quando as temperaturas estão muito altas ou baixas os adultos buscam proteção, entrando em estivação no solo ou em ranhuras da casca.⁸³ Este tipo de controle é efetivo apenas em curto prazo devido ao elevado custo.⁵⁰

O controle cultural pode ser feito com toretes-armadilha, possibilitando a detecção precoce e o monitoramento da praga. Também recomenda-se a utilização de medidas preventivas, como a escolha de sítios com boas condições para prevenir estresse nas árvores; restos de poda e desbastes devem ser recolhidos e destruídos pelo fogo ou com picadores, para evitar a ploriferação do inseto.^{50, 82}

O controle microbiano com fungos entomopatogênicos pode ser uma alternativa viável para o controle de *P. castaneus*, como foi demonstrado com o fungo *Beauveria bassiana*, que apresentou virulência satisfatória e TL_{50} na concentração de $7,0 \times 10^7$ conídios/mL.⁸⁴

Este inseto representa uma ameaça à produção florestal brasileira, visto que tem potencial para causar perdas econômicas, como as ocorridas no Uruguai, onde há uma mortalidade superior a 10% das árvores devido a ataques de *P. castaneus*⁷⁵; faz-se, então, necessária a criação de mecanismos de resistência a este inseto, assim como o desenvolvimento de um programa de Manejo Integrado de Pragas, que incluíssem a utilização de feromônios e cairomônios deste inseto.

II. OBJETIVOS GERAIS

Estudar a ecologia química do gorgulho-da-casca-do-pinus, *P. castaneus*, em plantios de *Pinus spp.*, visando seu monitoramento e controle populacional.

II.1 Objetivos específicos

- Estudar a ecologia química de *P. castaneus* e *Pinus spp.*, visando a extração e identificação de infoquímicos, mais especificamente de possíveis feromônios e cairomônios.

- Avaliar a eficiência um tipo de armadilha já empregada para a captura de outra espécie de *Pissodes* em uma área reflorestada com *P. taeda*.

- Extrair e identificar voláteis de *P. taeda* induzidos por danos causados por *P. castaneus*.

III. MATERIAIS E MÉTODOS

As análises de cromatografia gasosa foram realizadas em modo splitless em cromatógrafos Varian® 3800, equipado com coluna aquiral VA-5, e Shimadzu® GC-17, equipado com uma coluna aquiral DB-5 (30m x 0,25mm x 0,25µm). As análises quirais foram realizadas em cromatógrafo Varian® 3800, equipado com coluna quiral Chirasil-Dex CB β-Ciclodextrina (25m x 0,25mm). Em todos os equipamentos foi utilizado He como gás de arraste. A rampa de aquecimento para todas as análises foi de 50°C a 170°C, a 3°C por minuto.

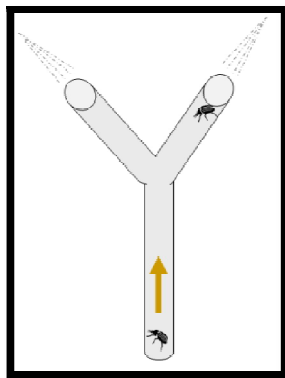
As análises de fragmentação de massas foram efetuadas em modo splitless em equipamentos Varian® CG/EM/EM Saturn 2000, acoplado a um cromatógrafo gasoso Varian® 3800, e Shimadzu® GCMS-QP5000, acoplado a um cromatógrafo gasoso Shimadzu® GC-17^a. A rampa de aquecimento para todas as análises foi de 50°C a 300°C, a 3°C por minuto.

III.1 Obtenção e criação dos insetos

P. castaneus foram obtidos de toretes com oviposição coletados no plantio de *P. taeda* da Rigesa Celulose, Papel e Embalagens Ltda., em Três Barras-SC. Os toretes foram armazenados em gaiolas teladas em salas com temperatura ambiente e vistoriados diariamente para obtenção de machos e fêmeas virgens. Os insetos recém-emergidos foram separados por sexo e, então, utilizados nos experimentos.

III.2 Teste comportamental utilizando olfatômetro em Y

Para avaliar a resposta de *P. castaneus* aos voláteis, foram realizados testes utilizando-se um olfatômetro em Y.



Esquema 2 – Olfatômetro em Y

Em um dos braços do olfatômetro foram colocados alguns indivíduos – machos ou fêmeas de *P. castaneus* – como estímulo, enquanto o outro braço foi mantido vazio, servindo de controle. Em seguida, um indivíduo foi liberado na extremidade inferior do tubo.

Quando este indivíduo movia-se para o braço do tubo contendo o estímulo, considerava-se a resposta como positiva, enquanto foi considerada negativa quando este se movia para o braço vazio. Se o inseto não se movesse para nenhum dos braços em 15 minutos, este era considerado não-responsivo. A cada teste, as posições do estímulo e do controle eram invertidas.

III.3 Aeração de machos e fêmeas de *P. castaneus*

Machos e fêmeas de *P. castaneus* foram colocados em câmaras de aeração distintas junto com ramos de *P. taeda*, utilizados como alimento, e os voláteis foram carregados com fluxo de ar umidificado a uma vazão de 1L/min e foram adsorvidos em resina Super Q[®].

Os voláteis foram dessorvidos da resina a cada 24 horas utilizando-se hexano de alta pureza. Os extratos foram concentrados sob fluxo de argônio até cerca de 10µL. Após concentrados, 1µL de cada extrato foi analisado por cromatografia gasosa e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

III.4 Determinação da estereoquímica absoluta do grandisol e grandisal

As estereoquímicas dos compostos produzidos pelos insetos machos foram determinadas em colaboração com o Prof. Dr. Wittko Francke, do Departamento de Química da Universidade de Hamburgo, na Alemanha, através da técnica de cromatografia gasosa em fase estacionária quiral e aquiral. Num primeiro momento, uma alíquota do extrato natural (~ 50 µ de um extrato preparado pela aeração de 20 insetos por 48h) foi tratada com hidreto de lítio e alumínio (1-4 mg) e agitada à temperatura ambiente por 20 minutos. Posteriormente, adicionou-se água (100 µL) e a fase orgânica foi separada e secada sob Na₂SO₄. O produto da reação foi analisado por CG-EM sem ser purificado.

A mistura racêmica contendo os dois enantiômeros do grandisol, o extrato tratado com hidreto de lítio e alumínio e o padrão sintético do (1*R*,2*S*)-grandisol foram analisados por cromatografia gasosa equipada com coluna capilar quiral de sílica fundida preenchida com uma mistura 1:1 de heptakis-(6-*O*-*tert*-butildimetilsilil-2,3-di-*O*-metil)-β-ciclodextrina e OV-1701 (50m x 0,25mm), a 90°C. A estereoquímica dos

produtos naturais foi determinada através da coincidência dos tempos de retenção entre estes e os padrões analisados.

III.5 Aeração de ramos de *Pinus spp.*

Para a extração dos voláteis de *Pinus spp.* foram colocados ramos de árvores saudáveis de 5 espécies diferentes de *Pinus* – *P. taeda* e *P. elliottii*, que são atacados por *P. castaneus*, e *P. patula*, *P. caribaea* e *P. maximinoi*, que não têm relatos de ataques de *P. castaneus* – em câmaras de aeração distintas. Os voláteis foram carregados com fluxo de ar de vazão de 1L/min e foram adsorvidos em resina Super Q®.

O tempo de coleta dos voláteis foi de 24 horas e a dessorção dos compostos foi feita utilizando-se hexano de alta pureza. Os extratos foram concentrados sob um fluxo de argônio previamente purificado até cerca de 10 µL. Após concentrados, 1µL de cada extrato foi analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

Esta análise foi realizada em triplicata, para cada espécie de pinus.

III.6 Determinação da composição enantiomérica de α - e β -Pineno nos voláteis de *Pinus spp.*

Os extratos das 5 espécies de pinus também foram analisados em cromatografia gasosa com coluna capilar quiral, para a determinação da composição enantiomérica de α - e β -Pineno nos voláteis destas plantas.

Para isso, foram injetados padrões de (+)- α -pineno, (-)- α -pineno, (+)- β -pineno e (-)- β -pineno, utilizando-se o mesmo equipamento e a mesma rampa de aquecimento, obtendo-se, assim, o tempo de retenção destes quatro compostos. A seguir, foram injetados os extratos dos voláteis das espécies, em triplicata.

IV.7 Análise quimiométrica dos voláteis de *Pinus spp.*

Os dados obtidos na aeração de ramos de *Pinus spp.* foram analisados quimiometricamente, através de Análises de Componentes Principais (PCA), para a identificação dos compostos voláteis responsáveis pelas semelhanças e diferenças entre as espécies.

Também foram realizadas análises de agrupamento hierárquico (HCA), utilizando-se o método de k-vizinho mais próximo, para a observação da homogeneidade entre as amostras analisadas.

Ambas as análises foram realizadas utilizando o pacote PLS-Toolbox 3.0, que opera em ambiente MatLab 7.0.1.

III.8 Análise dos voláteis de *P. taeda* induzidos por ataques de *P. castaneus*

Para a extração de voláteis de *P. taeda* induzidos pelo ataque de *P. castaneus*, foram colocados machos e fêmeas, separadamente, em gaiolas junto com mudas da árvore, para que estas fossem atacadas. Após 72 horas, foram cortados ramos destas mudas e colocados em câmaras de aeração distintas. Os voláteis foram carregados com fluxo de ar de vazão de 1L/min e foram adsorvidos em resina Super Q[®].

O tempo de coleta dos voláteis foi de 24 horas e a dessorção dos compostos foi feita utilizando-se hexano de alta pureza. Os extratos foram concentrados sob um fluxo de argônio previamente purificado até cerca de 10 µL. Após concentrados, 1µL de cada extrato foi analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

A análise foi realizada em triplicata para cada tratamento.

III.9 Teste de armadilhas contra *P. castaneus*

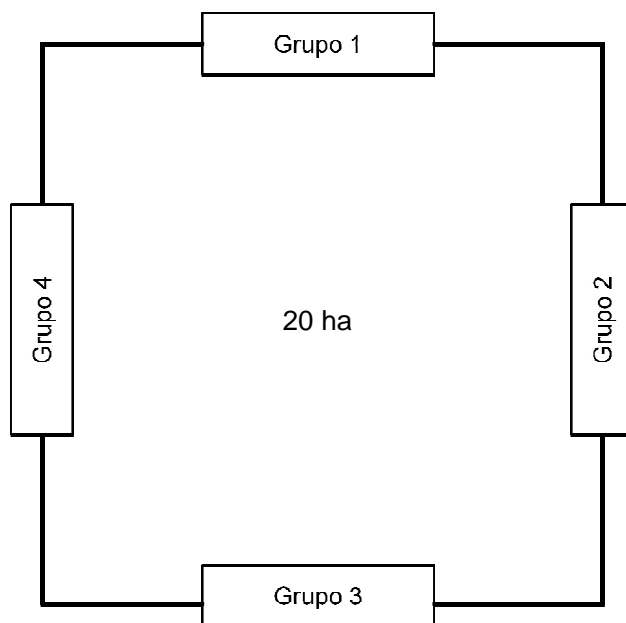
Para determinar a eficiência de armadilhas para o controle de *P. castaneus*, foram instalados dois tipos de armadilhas em campo: toretes-armadilha e armadilhas do tipo funil, entre novembro de 2009 e abril de 2010.

A instalação dos toretes-armadilha consistiu em se colocar 4 grupos de 16 toretes de 1 metro de comprimento e 5 a 10 centímetros de diâmetro empilhados de 4 em 4 em um talhão de 20 hectares. Os toretes devem ser recém-cortados de árvores recém-abatidas (madeira fresca), desganhados e deixados na sombra.

Os toretes foram deixados no campo por 30 dias e então levados para o laboratório, onde foram armazenados até que todos os insetos emergissem.

As armadilhas do tipo funil foram instaladas em 4 grupos de 4 armadilhas em um talhão de 20 hectares, seguindo o padrão descrito no Esquema 2. Foram testadas armadilhas utilizando o óleo essencial de *P. taeda* e uma mistura 2:1

de α - e β -pineno como atrativos, assim como um branco e um controle, contendo apenas etanol.



Esquema 3 – Disposição das armadilhas no campo

As armadilhas foram vistoriadas mensalmente, para a contagem dos insetos capturados e reposição dos atrativos.



(a)



(b)

Figura 31 – Armadilha do tipo funil (a) e toretes-armadilha (b)

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1 Testes comportamentais em olfatômetro em Y

Foram realizadas sete baterias de testes comportamentais diferentes, cada uma sendo repetida pelo menos 40 vezes. Em cada teste, 3 indivíduos eram colocados (machos ou fêmeas) em um dos braços do olfatômetro como estímulo, mantendo o outro braço vazio como controle e, a seguir, soltava-se um indivíduo na extremidade inferior do tubo. Caso este indivíduo se deslocasse até o braço contendo o estímulo, considerava-se o resultado positivo. Caso se deslocasse até o braço do controle, o resultado era negativo. Se o inseto não se movesse para nenhum dos braços em até 15 minutos, este era considerado não-responsivo.

Foram realizados testes com todas as quatro combinações possíveis entre os insetos (fêmea vs macho, fêmea vs fêmea, machos vs macho e macho vs fêmea). O efeito dos compostos exalados pela planta hospedeira sobre os insetos foi também mensurado na tentativa de se determinar a existência de cairomônios, bem como para avaliar se havia efeito sinérgico entre feromônio e cairomônio. Os resultados dos testes encontram-se na tabela 2.

Tabela 2 – Testes comportamentais em olfatômetro em Y

Teste	Estímulo	Sexo responsivo	Positivo	Negativo	χ^2	p
1	Machos	Fêmeas	27	13	4,90	0,04
2	Machos	Machos	22	18	0,40	0,64
3	Fêmeas	Machos	18	22	0,40	0,64
4	Fêmeas	Fêmeas	24	16	1,60	0,26
5	<i>P. taeda</i>	Fêmeas	27	13	4,90	0,04
6	<i>P. taeda</i>	Machos	29	11	6,53	0,01
7	Machos + <i>P. taeda</i>	Fêmeas	27	13	4,90	0,04
8	Machos + <i>P. taeda</i>	Machos	22	18	0,40	0,64

O resultado de cada situação avaliada foi considerado significativo quando $p < 0,05$, ou seja, apenas os testes de atração de fêmeas pelos machos, os de atração de fêmeas pelos machos com alimentos e os dois sexos pelo alimento se mostraram significativos. Estes resultados indicaram que os machos possivelmente estava

produzindo feromônios sexuais, atraindo apenas as fêmeas da espécie. Os compostos emitidos pela planta hospedeira estariam agindo como cairomônios e não foi observado nenhum efeito sinérgico ou aditivo entre a atração exercida pelos insetos com a atração exercida pelos compostos exalados pela planta hospedeira.

IV.2 Extração e análise dos voláteis de *P. castaneus*

Cada extrato foi analisado, em um primeiro momento, através da técnica de cromatografia gasosa aplicada a detector de ionização de chamas. Verificou-se, inicialmente, que os extratos dos machos e das fêmeas apresentavam os mesmos compostos, variando apenas a intensidade. A partir do 21º dia de vida adulta dos insetos, foi observada a presença de dois compostos nos extratos da aeração dos machos, não presentes nos extratos das fêmeas, produzidos em quantidades relativas de 40-47% para o composto *a* e 53-60% para o composto *b*. Estes compostos foram observados em todos os extratos a partir de então, até o término das aerações.

O fato de se ter dois compostos sendo produzidos apenas pelos machos e os resultados obtidos nos testes em olfatômetro em Y indicavam que estes compostos deveriam estar mediando uma comunicação intraespecífica, atuando como feromônio sexual. Assim sendo, esforços foram então direcionados para a identificação estrutural destes compostos.

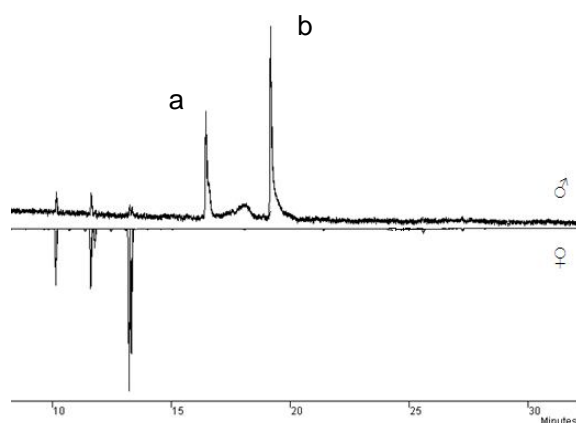


Figura 32 – Análise em cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas (CG-FID) de voláteis obtidos de machos (♂) e de fêmeas (♀) de *P. castaneus* mostrando os compostos macho-específicos (*a* e *b*)

O extrato de aeração dos machos foram analisados utilizando-se cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Os espectros de massas dos dois compostos são mostrados na figura 33.

Através da análise das fragmentações dos dois compostos, pode-se verificar a presença de diversos fragmentos comuns aos dois compostos, indicando semelhança estrutural entre eles. Além disso, o composto *a* apresenta um pico de massa 123 (M - 29), indicando a perda de COH – fragmentação típica de aldeídos – enquanto o composto *b* apresenta os fragmentos 139 (M - 15), indicando a perda de CH₃, e 121 (139 - 18), indicando a perda de H₂O – fragmentação típica de álcoois. Estas informações mostravam que se tratava de um aldeído e um álcool com o esqueleto carbônico, senão igual, muito parecidos entre si.

Em uma busca na literatura com relação aos semioquímicos já identificados para o gênero, verificou-se que outras espécies, *P. strobi* e *P. nemorensis*, utilizam grandisal e grandisol como mensageiros químicos, no caso como feromônio de agregação.⁷³ As fragmentações dos compostos produzidos por *P. castaneus* estavam em boa concordância com as estruturas do grandisal e grandisol.

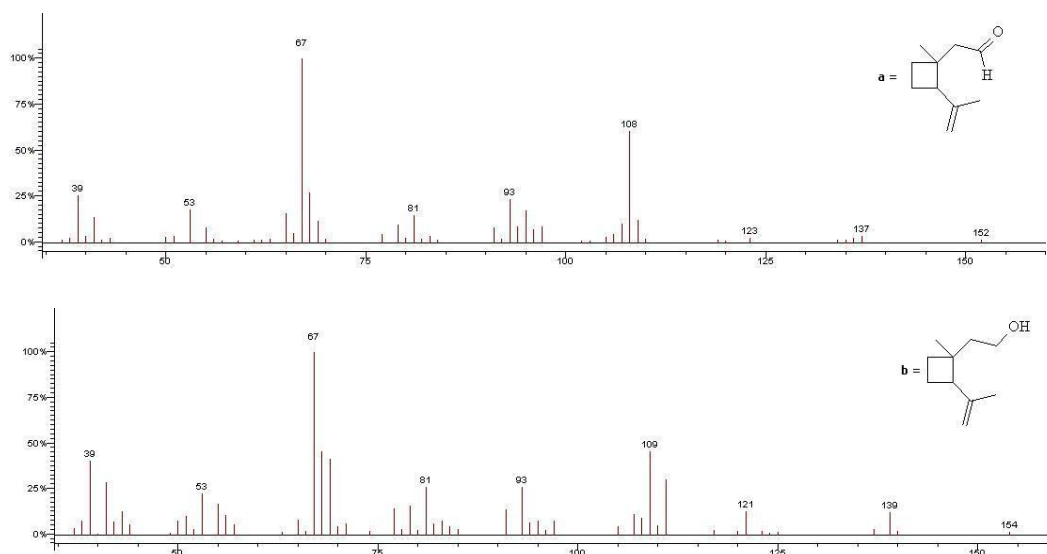


Figura 33 – Espectro de massas do (a) grandisal e (b) grandisol, componentes do extrato da aeração de machos de *P. castaneus*.

Assim sendo, os compostos macho-específicos de *P. castaneus* foram identificados como sendo grandisal e grandisol.

IV.3 Determinação da estereoquímica absoluta do grandisal e grandisol

A estereoquímica dos compostos produzidos pelos insetos machos foram determinadas em colaboração com o Prof. Dr. Wittko Francke, do Departamento de Química da Universidade de Hamburgo, na Alemanha, através da técnica da cromatografia gasosa com coluna capilar quiral. Num primeiro momento, uma alíquota

do extrato natural foi tratada com hidreto de lítio e alumínio (LiAlH_4), levando à conversão do grandisal em grandisol, conforme observado pelos cromatogramas abaixo:

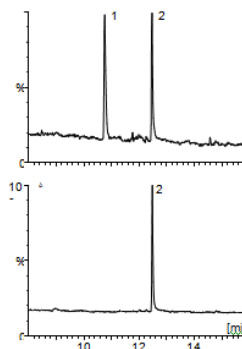


Figura 34 – Cromatogramas em coluna aquiral de a) extrato natural contendo o grandisal (1) e grandisol (2), respectivamente; b) extrato natural tratado com LiAlH_4 .

A mistura racêmica, contendo os dois enantiômeros do grandisol, foi analisada por cromatografia gasosa equipada com coluna capilar quiral, obtendo-se uma boa separação dos mesmos (Figura 35c). Na sequência, o extrato tratado com LiAlH_4 foi analisado nas mesmas condições utilizadas para a mistura racêmica (Figura 35b), condições também empregadas na análise do padrão sintético do (1*R*,2*S*)-grandisol (Figura 35d). A coincidência entre os tempos de retenção do padrão sintético com o produto presente no extrato natural levou à determinação inequívoca da estereoquímica do feromônio produzido pelo inseto como sendo (1*R*,2*S*)-grandisol.

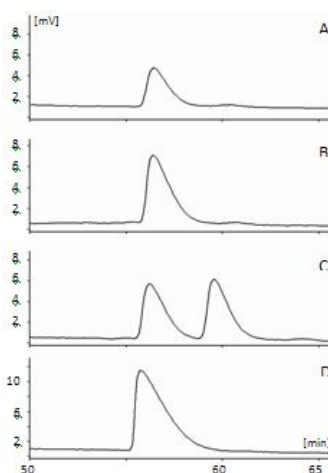


Figura 35 – cromatogramas em coluna quiral de grandisol presente no extrato natural **(a)**; grandisol preparado pelo tratamento do extrato natural com LiAlH_4 **(b)**; mistura racêmica do grandisol sintético **(c)**; padrão sintético do (1*R*,2*S*)-grandisol **(d)**

Esta técnica de análise possibilitou determinar que o inseto produz tanto o grandisol quanto o grandisal com a mesma estereoquímica e em elevado excesso enantiomérico, uma vez que o excesso enantiomérico do grandisol preparado pelo tratamento do extrato natural com LiAlH_4 foi de 95,78%.

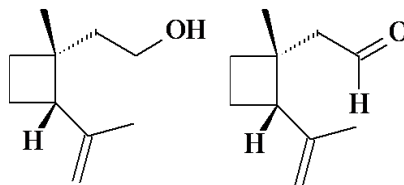


Figura 36— Estruturas do (1*R*,2*S*)-grandisol e (1*R*,2*S*)-grandisal, produzidos pelo inseto.

Comparando a estereoquímica dos feromônios de *P. castaneus* com os das outras duas espécies de *Pissodes* existentes na literatura,^{72, 73} pode-se afirmar que a comunicação química baseada no grandisal e grandisol é específica, uma vez que cada espécie produz uma razão enantiomérica diferente dos compostos em questão.

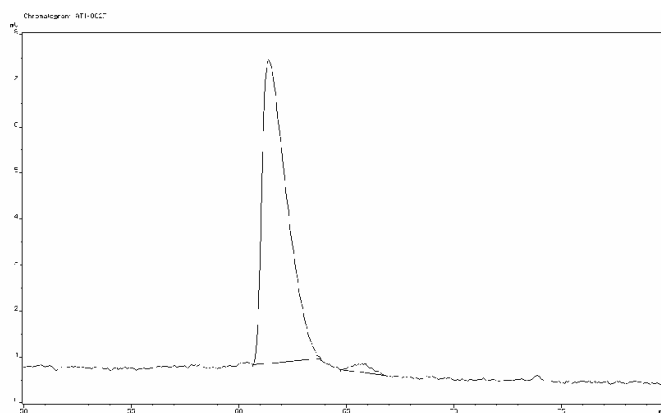


Figura 37 – Cromatograma da análise quiral do grandisol depois do tratamento com LiAlH_4

Além da razão enantiomérica ser diferente, para as diferentes espécies de *Pissodes* já estudadas, observa-se também uma variação na proporção entre grandisal e grandisol produzidos, indicando que tanto a estereoquímica quanto a proporção entre os compostos devem estar envolvidas na especificidade da comunicação química.

Tabela 3 – Proporção entre os enantiômeros de grandisal e grandisol produzidos pelas espécies de *Pissodes*

Espécie	Quantidade relativa (%)			
	Grandisal		Grandisol	
	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)	(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)	(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)
<i>P. nemorensis</i>	<1	>99	100	0
<i>P. strobi</i>	60	40	99	1
<i>P. castaneus</i>	>95	<5	>95	<5

Ressalta-se ainda o fato de ser este o primeiro relato na literatura de grandisal e grandisol estarem sendo usados como feromônios sexuais para uma espécie do gênero *Pissodes*, tendo em vista que nos casos anteriores eles foram identificados como feromônios de agregação.

Tabela 4 – Proporção entre grandisal e grandisol produzidos pelas espécies de *Pissodes*

Espécie	Quantidade relativa (%)	
	Grandisal	Grandisol
<i>P. nemorensis</i>	95-75	25-05
<i>P. castaneus</i>	43-30	70-57

IV.4 Extração e análise dos voláteis de *Pinus spp.*

Os extratos foram analisados empregando-se a técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas bem como calculando-se o índice de Kovats de cada composto. Os espectros de massas dos compostos e seus índices de Kovats foram comparados com dados de literatura.⁸⁵ Os cromatogramas são mostrados na figura 38 e a quantidade relativa de cada composto para cada espécie de *Pinus* encontra-se na tabela 5, a seguir.

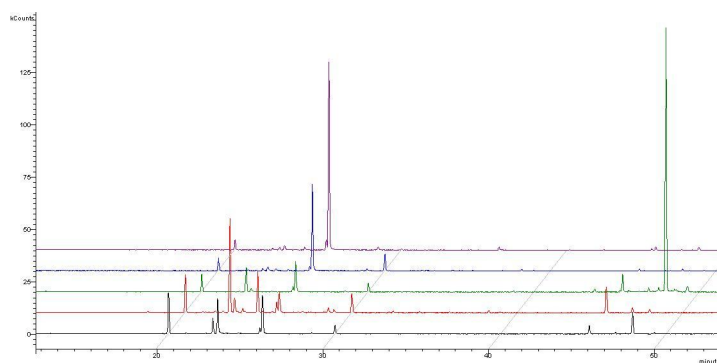


Figura 38 – Cromatogramas representativos dos voláteis de *P. taeda* ●, *P. maximinoi* ●, *P. elliottii* ●, *P. caribaea* ● e *P. patula* ●

Tabela 5 – Quantidade relativa de cada composto por espécie de Pinus.

		Quantidade relativa (%)				
	Composto	<i>P. caribaea</i>	<i>P. elliotti</i>	<i>P. maximinoi</i>	<i>P. patula</i>	<i>P. taeda</i>
1,2	α -pineno	9,95 \pm 1,2	16,68 \pm 1,8	22,43 \pm 9,9	4,56 \pm 0,1	22,73 \pm 0,2
3	canfeno	0,13 \pm 0,1	1,19 \pm 0,1	0,35 \pm 0,13	--	--
4	sabineno	--	1,23 \pm 0,1	--	0,92 \pm 0,04	--
5,6	β -pineno	1,62 \pm 0,7	24,25 \pm 0,3	27,00 \pm 3,9	1,12 \pm 0,1	10,38 \pm 1,5
7	mirceno	3,92 \pm 0,5	5,32 \pm 0,3	4,27 \pm 1,5	2,39 \pm 0,3	16,14 \pm 3,0
8	δ -2-careno	2,73 \pm 1,6	--	18,54 \pm 2,3	--	--
9	limoneno	--	--	--	4,45 \pm 0,1	3,21 \pm 0,3
10	β -felandreno	69,21 \pm 6,6	23,59 \pm 1,0	6,48 \pm 1,5	80,66 \pm 0,7	17,08 \pm 5,3
11	terpinoleno	--	0,49 \pm 0,04	5,62 \pm 2,91	--	--
12	p-menta- 2,4(8)-dieno	--	--	--	1,57 \pm 0,2	--
13	éter timol metílico	--	--	--	1,49 \pm 0,3	--
14	acetato de bornila	--	--	--	--	5,26 \pm 0,5
15	(E)- cariofileno	2,14 \pm 0,6	12,80 \pm 0,4	7,11 \pm 2,9	1,42 \pm 0,1	1,23 \pm 0,3
16	α -humuleno	1,05 \pm 0,6	--	--	--	0,69 \pm 0,1
17	germacreno D	7,92 \pm 6,6	9,17 \pm 2,0	--	1,31 \pm 0,1	15,91 \pm 3,8
18	α -muuroleno	--	--	1,29 \pm 0,51	--	1,11 \pm 0,3

IV.5 Determinação da composição enantiomérica de α - e β -pineno nos voláteis de *Pinus spp.*

Os mesmos extratos do item anterior foram analisados em cromatografia gasosa com coluna capilar quiral, visando a determinação da composição enantiomérica de α - e β -pineno. Os extratos e os padrões foram analisados no mesmo equipamento e utilizando a mesma rampa de aquecimento. Os resultados da análise encontram-se na tabela 6.

O α -pineno é produzido por *P. taeda* em grande excesso do enantiômero (+) e o *P. elliottii* produz o enantiômero (+) em um pequeno excesso, enquanto a espécie *P. patula* produz os dois enantiômeros em uma proporção de 1:1 e as outras duas espécies, *P. caribaea* e *P. maximinoi*, produzem o enantiômero (-) em excesso.

Tabela 6 – Composição enantiomérica de α - e β -pineno nos voláteis de *Pinus spp.*

		Quantidade relativa (%)				
	Composto	<i>P. caribaea</i>	<i>P. elliotti</i>	<i>P. maximinoi</i>	<i>P. patula</i>	<i>P. taeda</i>
1	(+)- α -pineno	42,70 \pm 4,4	57,09 \pm 3,4	28,96 \pm 8,1	50,23 \pm 3,0	80,79 \pm 1,5
2	(-)- α -pineno	57,30 \pm 4,4	42,91 \pm 3,4	71,04 \pm 8,1	49,77 \pm 3,0	19,21 \pm 1,5
5	(+)- β -pineno	28,67 \pm 7,8	1,96 \pm 0,9	37,28 \pm 6,3	21,12 \pm 6,7	7,84 \pm 1,6
6	(-)- β -pineno	71,32 \pm 7,8	98,04 \pm 0,9	62,72 \pm 6,3	78,88 \pm 6,7	92,16 \pm 1,6

Todas as espécies de pinus analisadas produzem, com alguma variação percentual, o mesmo estereoisômero de β -pineno como majoritário. Estes resultados, somados a análise dos outros componentes voláteis, sinalizam certa homogeneidade entre as espécies.

IV.6 Análise quimiométrica dos voláteis de *Pinus spp.*

Como reportado na literatura, é possível diferenciar espécies de *Pinus* baseando-se em análises químicas dos tecidos, como as acículas⁸⁶ e os floemas⁸⁷ destas árvores. Para verificar a diferenciação das cinco espécies de *Pinus* analisadas usando os voláteis produzidos por elas, foram realizadas análises de HCA (análise de agrupamento hierárquico), usando o método de KNN (k-nearest neighbor, que considera a distância euclidiana entre os vizinhos mais próximos), e de PCA (análise de componentes principais).

Sabendo-se que os enantiômeros dos compostos têm, normalmente, atividades biológicas específicas, cada enantiômero de α - e β -pineno foi tratado como um composto diferente.

IV.6.1 Análise de Componentes Principais

Para a análise de PCA, os dados da concentração relativa dos voláteis produzidos pelas espécies de *Pinus* foram autoescalados a fim de compensar as diferenças entre as concentrações de cada composto e evitar um mascaramento das variáveis com menor valor. Os gráficos de scores e de loadings das três primeiras componentes principais foram plotados (figuras 39 e 40). Estas três componentes explicam 82,65% da variância dos dados.

Através da análise dos gráficos de scores e de loadings, pode-se determinar quais compostos são responsáveis pelas diferenças entre as amostras. Inicialmente, pode-se verificar uma boa separação entre as espécies, principalmente no gráfico de scores de PC1 vs PC2 (figura 39a).

É possível verificar uma separação grande da espécie *P. maximinoi* em relação às outras espécies nos gráficos de scores de PC1 vs PC2 e PC1 vs PC3 (figura 39b). Nestes gráficos é possível observar que esta espécie apresenta um valor mais positivo de score na PC1. Esta diferença, segundo os gráficos de loadings, é devido principalmente à maior concentração relativa dos compostos (-)- α -pineno (2), canfeno (3), (+)- β -pineno (5), δ -2-careno (8), terpinoleno (11), (*E*)-cariofileno (15) e α -muuruleno (18), observável nas figuras 40a e 40b.

Há, também, uma boa separação da espécie *P. patula* em relação às demais nos gráficos de scores de PC1 vs PC2 e de PC1 vs PC3, cujo valor de score na PC1 é negativo. Esta diferença é devido principalmente à maiores concentrações dos compostos sabineno (4), limoneno (9) β -felandreno (10), *p*-menta-2,4(8)-dieno (12) e éter timol metílico (13).

Também é possível verificar a diferença entre *P. taeda* e as demais espécies, já que estas amostras apresentam valores mais positivos de scores na PC2. Analisando os gráficos de loadings, percebe-se que a diferença é devido, principalmente, à maior concentração relativa dos compostos (+)- α -pineno (1), mirceno (7), acetato de bornila (14), α -humuleno (16) e germacreno D (17), produzidos em uma quantidade muito maior nesta espécie.

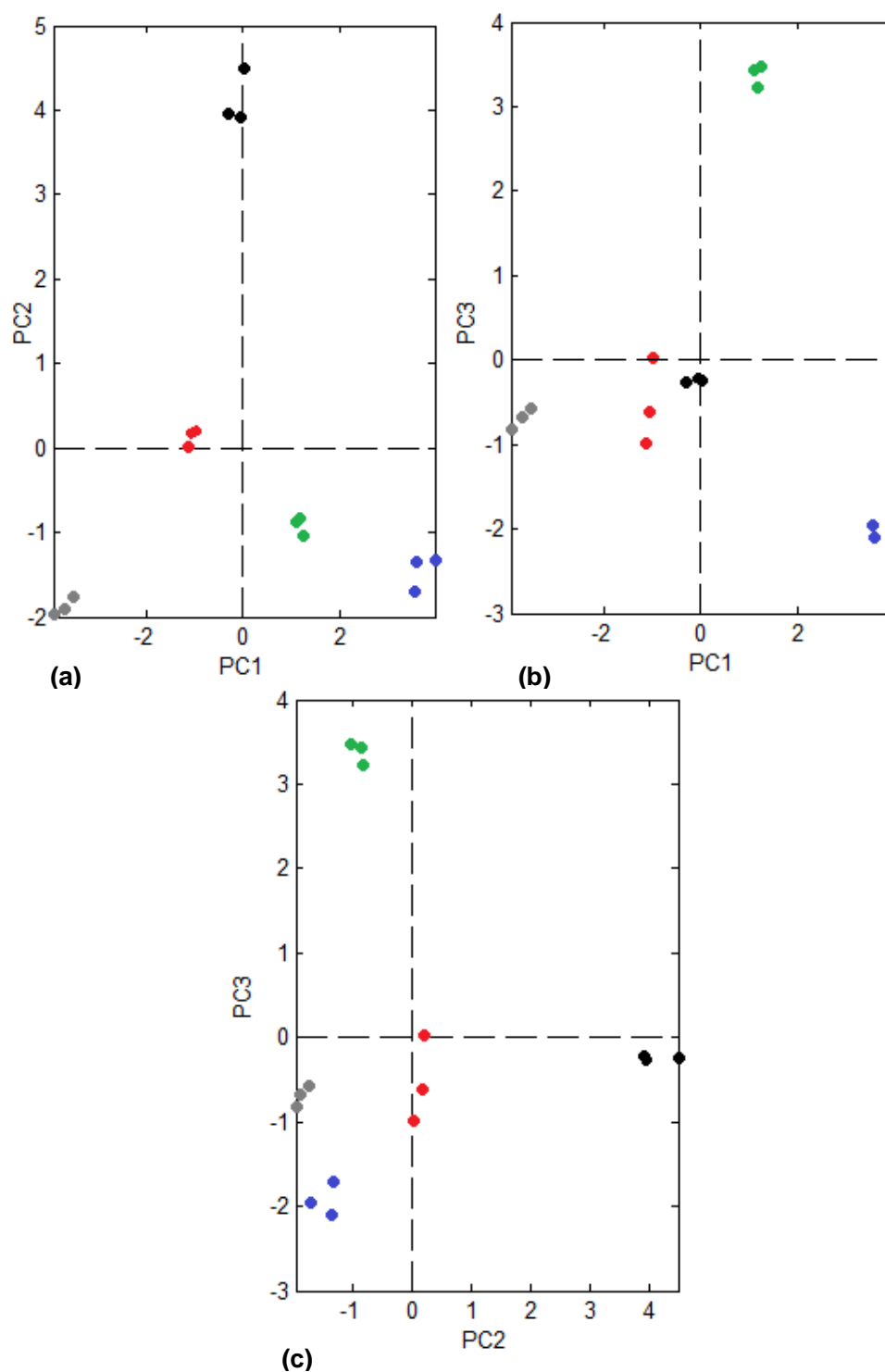


Figura 39 – Gráficos de scores das amostras de *Pinus*: **(a)** Componente 1 vs Componente 2, **(b)** Componente 1 vs Componente 3 e **(c)** Componente 2 vs Componente 3. ● *P. taeda*, ● *P. elliottii*, ● *P. caribaea*, ● *P. maximinoi* e ● *P. patula*

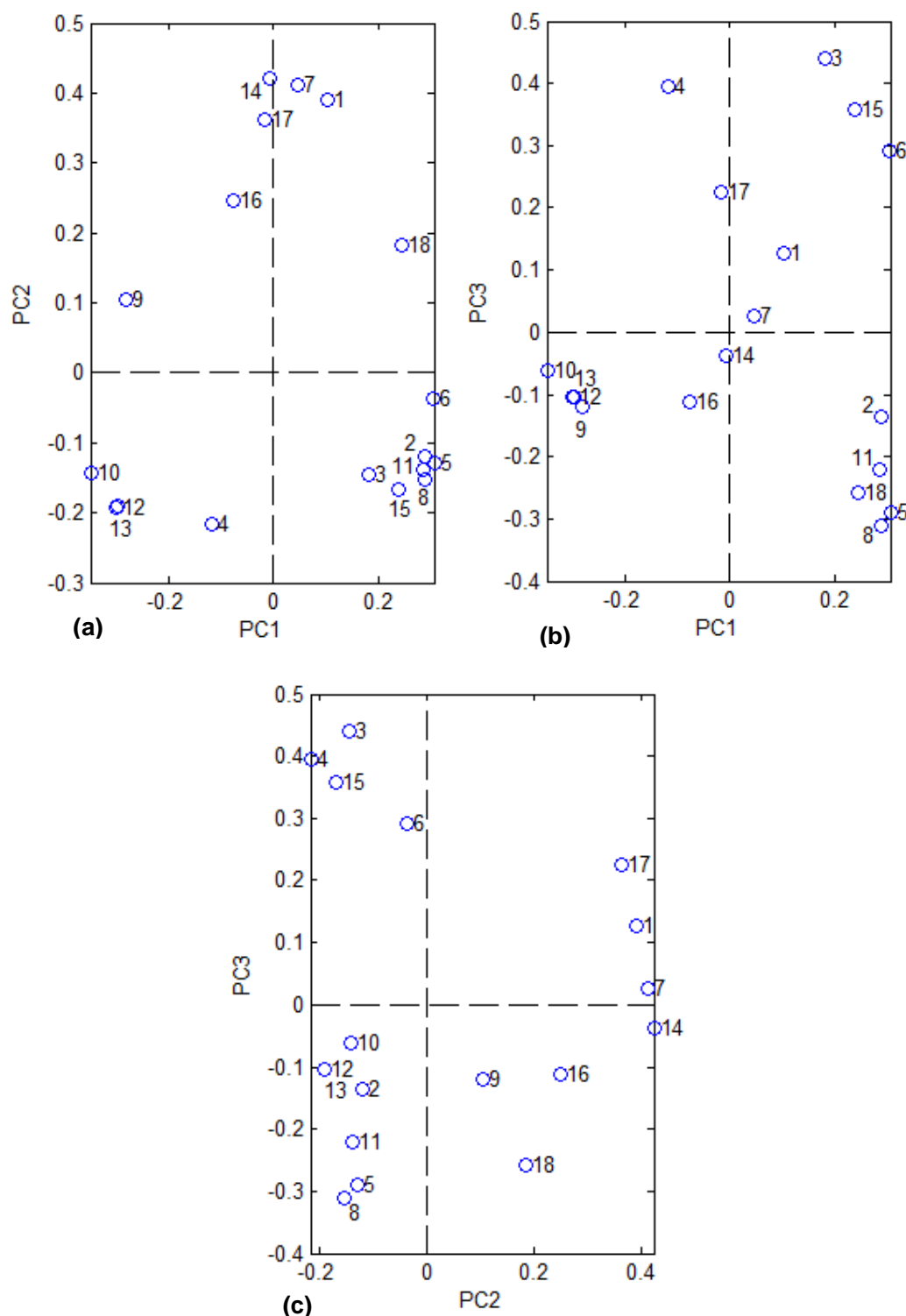


Figura 40 – Gráficos de loadings das amostras de *Pinus*: **(a)** Componente 1 vs Componente 2, **(b)** Componente 1 vs Componente 3 e **(c)** Componente 2 vs Componente 3 (ver tabela 5 e 6)

A espécie *P. caribaea* é diferenciada nos gráficos de PC1 vs PC2 e PC1 vs PC3 por apresentar valores levemente negativos na PC1 e próximos de zero nas PC2 e PC3. Isto se deve ao fato desta espécie produzir o composto β -felandreno (10) em quantidades muito grandes e o composto α -humuleno em quantidades maiores que as demais espécies.

A espécie *P. elliotii* se diferencia das demais principalmente nos gráficos de PC1 vs PC3 e PC2 vs PC3, por apresentar valores fortemente positivos na PC3. Isto se deve à presença dos compostos (-)- α -pineno (2), canfeno (3), sabineno (4), (+)- β -pineno (5), (-)- β -pineno (6) e (*E*)-cariofileno (15) em maiores quantidades.

IV.6.2 Análise de agrupamento hierárquico

O dendograma obtido pela análise de HCA (figura 41) dos voláteis das 5 espécies mostra 3 grupos bem distintos, um contendo as espécies *P. taeda*, *P. elliotii* e *P. caribaea*, outro contendo a espécie *P. maximinoi* e o terceiro, a espécie *P. patula*. Esta diferenciação está de acordo com a classificação do gênero (Esquema 4), em que as três espécies, *P. taeda*, *P. elliotii* e *P. caribaea* pertencem à mesma subseção, *Austrores*, enquanto *P. maximinoi* pertence à subseção *Ponderosae* e *P. patula*, à *Oocarpae*.⁴⁸

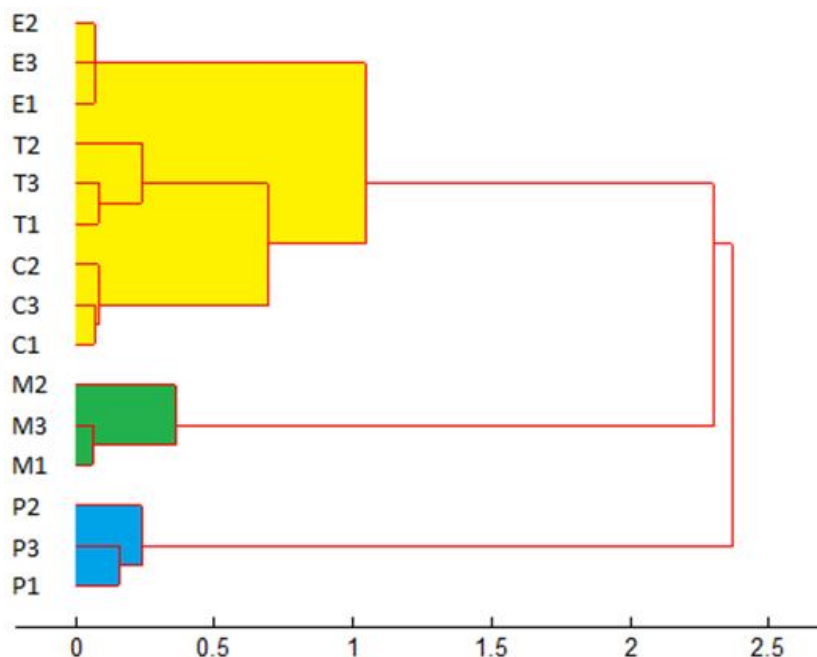
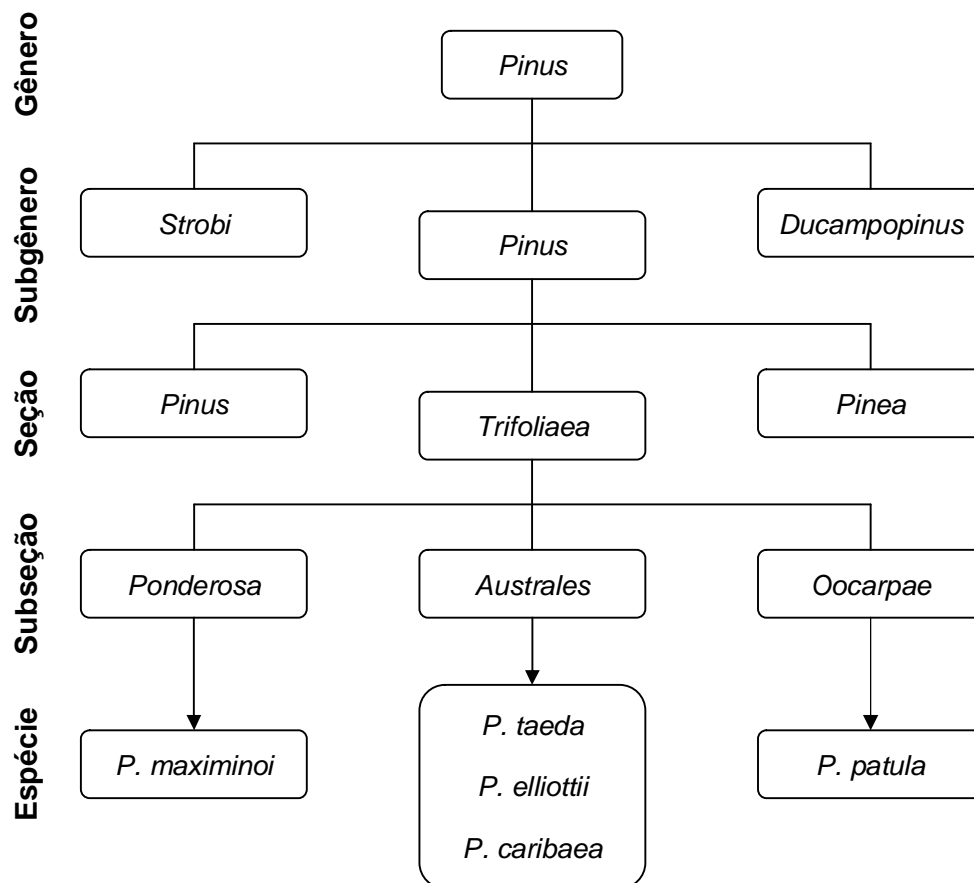


Figura 41 – Dendrograma usando o método de KNN para HCA das espécies *P. elliotii* (E), *P. taeda* (T), *P. caribaea* (C), *P. maximinoi* (M) e *P. patula* (P)

Esta análise conseguiu, inclusive, separar as espécies dentro da subseção *Austerales*. As espécies *P. taeda*, *P. caribaea* e *P. elliottii* mostraram uma boa separação.



Esquema 4 – Classificação taxonômica das espécies de *Pinus* analisadas

Estes resultados, ainda que preliminares, podem auxiliar em trabalhos futuros visando determinar se há alguma preferência de ataque de *P. castaneus* a uma determinada espécie de *Pinus* e se esta preferência pode ser explicada pelos compostos químicos que esta espécie produz.

IV.7 Extração e análise dos voláteis de *P. taeda* induzidos por *P. castaneus*

Os extratos dos voláteis induzidos por *P. castaneus* em *P. taeda* foram analisados empregando-se a técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e os resultados foram interpretados calculando-se o índice de Kovats de cada composto e comparando seus espectros de massas com os

descritos em literatura.⁸⁵ Os dados encontram-se na tabela 7 e nas figuras 42 e 43, abaixo.

Foi observado que, quando atacados por *P. castaneus*, as árvores de *P. taeda* tendem a produzir uma quantidade maior de α -pineno. Observou-se, também, a interrupção da produção de β -felandreno e germacreno D, além de compostos que não eram produzidos pelas árvores saudáveis, como prezizaeno, (*E*)-muurola-4(14),5-dieno e acetato de isobornila. Os dois últimos compostos, provavelmente, produtos do α -muuruleno e do acetato de bornila, respectivamente, produzidos quando a planta se encontra sadia, que sofreram alguma reação devido ao ataque. Estas reações podem estar ligadas às enzimas que os insetos depositam nas puncturas que abrem as árvores.

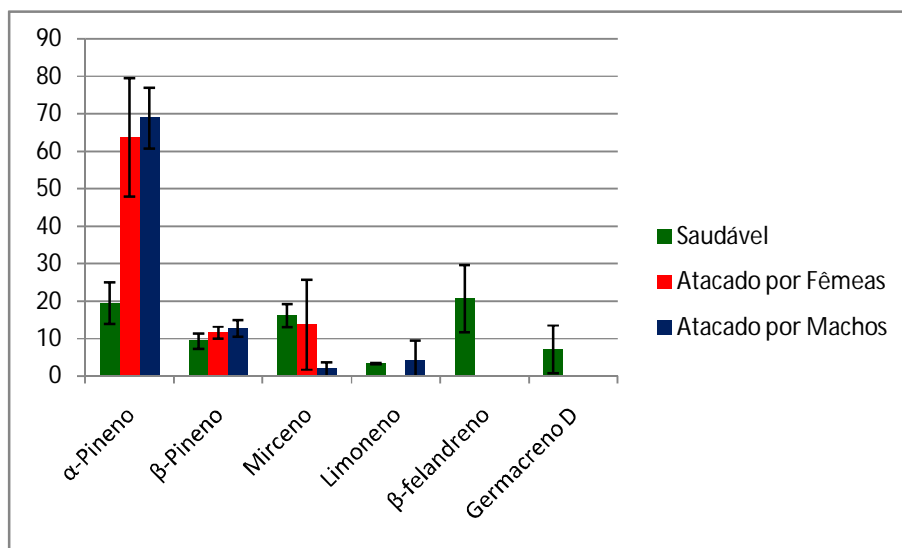


Figura 42 – Gráfico das Quantidades relativas dos compostos majoritários de *P. taeda* saudáveis, atacados por fêmeas e por machos de *P. castaneus*

Como o inseto, *P. castaneus*, se alimenta preferencialmente de plantas já debilitadas por ataques anteriores, pode-se vislumbrar que as defesas diretas da planta não estão sendo efetivas contra este inseto. Por outro lado, pode-se inferir que o inseto adaptou-se e passou a utilizar estes compostos produzidos pela planta para identificar árvores previamente atacadas e já fragilizadas.

Tabela 7 – Voláteis produzidos por *P. taeda* quando saudável e quando atacado por *P. castaneus*

Composto	Quantidade Relativa (%)		
	Saudável	Atacados por Fêmeas	Atacados por Machos
α -pineno	19,49 \pm 5,6	63,76 \pm 15,8	68,93 \pm 8,1
canfeno	--	0,77 \pm 0,2	0,73 \pm 0,1
β -pineno	9,34 \pm 2,0	11,59 \pm 1,6	12,67 \pm 2,2
mirceno	16,14 \pm 3,0	13,72 \pm 12,0	1,77 \pm 1,8
limoneno	3,37 \pm 0,2	--	4,17 \pm 5,3
β -felandreno	20,64 \pm 9,1	--	--
Z- β -ocimeno	--	4,16 \pm 3,0	--
1121*	--	1,37 \pm 0,4	1,67 \pm 0,4
acetato de bornila	3,76 \pm 2,9	--	--
acetato de isobornila	--	--	0,68 \pm 0,3
(E)-cariofileno	1,91 \pm 1,2	--	--
prezizaeno	--	1,34 \pm 0,7	1,21 \pm 0,7
α -humuleno	0,65 \pm 0,2	--	--
1480*	--	0,24 \pm 0,1	--
germacreno D	13,00 \pm 6,4	--	--
α -muuruleno	0,77 \pm 0,6	--	--
(E)-muurola-4(14),5-dieno	--	2,59 \pm 1,5	5,51 \pm 2,9
zonareno	--	0,19 \pm 0,1	0,19 \pm 0,1

* Compostos não identificados

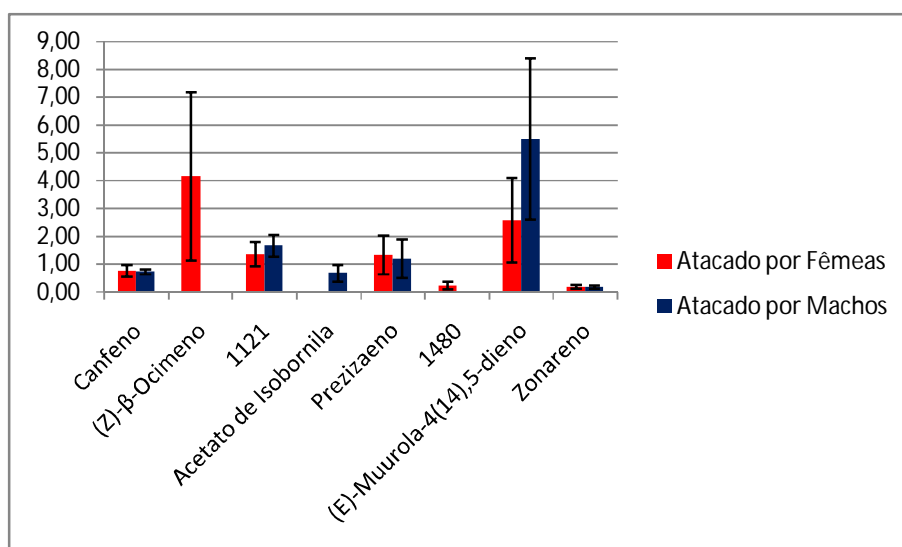


Figura 43 – Gráfico das Quantidades relativas dos compostos produzidos apenas por *P. taeda* atacados por *P. castaneus*

IV.8 Teste de armadilhas contra *P. castaneus*

As armadilhas do tipo funil foram penduradas em postes de madeira, a 50 cm do chão, na disposição mostrada anteriormente. No mesmo talhão, foram montados os toretes-armadilha, sendo um para cada grupo de armadilhas do tipo funil. Os toretes-armadilha foram trocados a cada 30 dias, mesmo período em que foram repostos os atrativos das armadilhas do tipo funil.

Os toretes armadilha, todos com claros sinais de oviposição, foram trazidos para o laboratório e guardados em gaiolas para que ocorresse a emergência dos adultos de *P. castaneus*. Em média, houve 17 adultos emergindo de cada um dos grupos de toretes-armadilha testados até agora.

Nas armadilhas do tipo funil, nenhum *P. castaneus* foi capturado. Entretanto, vários outros insetos, de diversas espécies, o foram. Este resultado se deve provavelmente à montagem da armadilha e ao tipo escolhido, uma vez que a presença de *P. castaneus* no campo foi provada pela captura de insetos nos toretes-armadilha.

V. CONCLUSÃO

Os testes comportamentais efetuados com os insetos e com a planta hospedeira, *P. taeda*, mostraram que os machos produzem compostos que provavelmente atuam como feromônios sexuais enquanto a planta hospedeira produz compostos que atuam como cairomônios e que não há efeito aditivo ou sinérgico entre os compostos exalados pelos machos e os exalados pela planta.

Os resultados permitiram a identificação de dois compostos produzidos apenas por machos de *P. castaneus* como sendo grandisal e grandisol. Através da técnica de cromatografia gasosa em fase estacionária quiral pode-se determinar, de forma direta e sem a necessidade de derivatização prévia, a estereoquímica absoluta dos compostos, (1*R*,2*S*)-grandisal e (1*R*,2*S*)-grandisol que são produzidos em excesso enantiomérico acima de 95%. Destaca-se o fato de este ser o primeiro relato de grandisal e grandisol sendo usados por uma espécie de inseto do gênero *Pissodes* como feromônios sexuais.

A análise quimiométrica dos voláteis de *Pinus spp.* mostrou-se um bom método para evidenciar os compostos responsáveis pela diferenciação entre as espécies. Basicamente, a espécie *P. maximinoi* produz (+)- β -pineno, δ -2-careno e terpinoleno em maior quantidade. A espécie *P. patula* apresenta maiores concentrações de éter timol metílico e *p*-menta-2,4-dieno enquanto *P. caribaea* produz β -felandreno e α -humuleno e *P. elliottii*, canfeno e (*E*)-cariofileno em maiores quantidades. Já a espécie *P. taeda* apresenta maior concentração relativa de (+)- α -pineno, mirceno e acetato de bornila. Além disso, a HCA evidenciou a possibilidade de classificação das espécies do gênero, o que gera bons indícios de que estas metodologias poderiam ser utilizadas em uma classificação quimiotaxonômica.

Quando atacadas por *P. castaneus*, as árvores de *P. taeda* passam a produzir α - e β -pineno em quantidades maiores, assim como há a interrupção da produção de β -felandreno e germacreno D. As árvores atacadas produzem também 8 compostos que não são produzidos por árvores sadias, com destaque para o (*E*)-muurola-4(14),5-dieno e o acetato de isobornila, que são, provavelmente, derivados do α -muuroleno e acetato de bornila, respectivamente, produzidos pela planta saudável.

As armadilhas do tipo funil não foram eficientes para a captura de *P. castaneus*. Por outro lado, os toretes-armadilha se mostraram eficientes para a atração destes insetos, numa possível identificação de reconhecimento do substrato

por parte do inseto. Estes toretes-armadilhas constituem, portanto, um eficiente método para o monitoramento desta espécie em campo.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FRANCKE, W., SCHULZ, S., Comprehensive natural products chemistry Vol. 8, Oxford: Elsevier Science LTD, **1999**
2. HULL, W.E., BERKESSEL, A., PLAGA, W., Structure elucidation and chemical synthesis of stigmolone, a novel type of prokaryotic pheromone *Proc. Natl. Acad. Sci.* , 95(19): p. 11268, **1998**
3. GRAMMER, K., FINK, B., NEAVE, N., Human pheromes and sexual attraction *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 118: p. 135, **2005**
4. KREMER, T., Insetos Brasileiros *Revista Superinteressante*, 12: p. 9, **1998**
5. VILELA, E.F., DELLA LUCIA, T.M.C., OLIVEIRA, J.S., Controle de insetos-pragas por comportamento: feromônio. . *Inf. Agrop.* , 12: p. 39, **1986**
6. KLOPFER, P.H., HATCH, J.J., Experimental considerations, *Em* T.A. Sebeok, Animal communication, University of Indiana Press, Bloomington, **1968**
7. WILSON, E.O., The insects societies, Harvard University Press, Cambridge, **1971**
8. LEWIS, B., GOWER, M., Biology of communication, Blackie, London, **1980**
9. NORDLUND, D.A., LEWIS, W.J., Terminology of chemical-releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions *J. Chem. Ecol.* , 2: p. 211, **1976**
10. DICKE, M., SABELIS, M.W., Infochemical terminology : should it be based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds. *Funct. Ecol.*, 2: p. 131, **1988**
11. DICKE, M., SABELIS, M.W., Costs and benefits of chemical information conveyance: proximate and ultimate factors, *Em* B.D. ROITBERG, ISMAN, M.B., Insect Chemical Ecology: an evolutionary approach, Chapman and Hall, New York, **1992**
12. PRICE, P.W., BOUTON, C.E., GROSS, P., McPHERON, B.A., THOMPSON, J.N., WEIS, A.E., Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 11: p. 41, **1980**
13. WHITMAN, D., Allelochemical among plants, herbivores, and their predators, *Em* P. Barbosa, Letorneau, D.K., Novel aspects of insect-plant interactions, John Wiley & Sons, New York, **1988**
14. DICKE, M., SABELIS, M.W., de JONG, M., Analysis of prey preference in phytoseiid mites by using an olfactometer, predation models and electrophoresis. *Experimental & applied acarology*, 5: p. 225, **1988**

15. WARDLE, A.R., BORDEN, J.H., PIERCE, J.H.D., GRIES, R., Volatile compounds release by disturbed and calm adults of the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*. *J. Chem. Ecol.*, 29: p. 931, **2003**
16. GRIBBLE, G.W., SILVA, R.A., Synthesis of mexican bean beetle azamacrolide allomone via a novel lactam to lactone ring expansions. *Tetrahedron Lett.*, 37: p. 2145, **1996**
17. VANDER MEER, R.K., SALIWANCHIK, D., LAVINE, B., Temporal changes in colony cuticular hydrocarbon patterns of *Solenopsis invicta*. *J. Chem. Ecol.*, 15: p. 2115, **1989**
18. VANDER MEER, R.K., WOJCIK, D.P., Chemical mimicry in the myrmophilous beetle *Myrmecaphodius excavaticollis*. *Science*, 218: p. 806, **1982**
19. KAISER, R., The Scent of Orchid, Olfactory and Chemical Investigations New York: Elsevier, **1993**
20. STOWE, M.K., TUMLINSON, J.H., HEATH, R.R., Chemical mimicry: Bolas spider emit components of moth prey species sex pheromones. *Science*, 236: p. 964, **1987**
21. FELLOWES, M.D.E., VAN ALPHEN, J.J.M., JERVIS, M.A., Cap: Foraging Behaviour, Insects as natural enemies: a practical perspective, Springer, New York. p. 26-30, **2005**
22. GULLAN, P.J., CRANSTON, P.S., Cap: Sensory systems and behavior, The insects: an outline of entomology, 3rd Ed., Blackwell Publishing, Malden. p. 104, **2005**
23. BEDARD, W.D., E. TILDEN, P.E., WOOD, D.L., SILVERSTEIN, R.M., BROWNLEE, R.G., RODIN, J.O., Western Pine Beetle: Field Response to Its Sex Pheromone and a Synergistic Host Terpene, Myrcene. *Science*, 164(3885): p. 1284, **1969**
24. FRANCIS, F., LOGNAY, G., HAUBRUGE, E., Olfactory responses to aphid host plant volatile releases: (*E*)- β -farnesene an affective kairomone for the predator *Adalia bipunctata*. *J. Chem. Ecol.*, 30: p. 741, **2004**
25. TAN, K., NISHIDA, R., TOONG, Y., Floral synomone of a wild orchid, *Bulbophyllum cheiri*, lures *Bactrocera* fruit flies for pollination. *J. Chem. Ecol.*, 28: p. 1161, **2002**
26. NAULT, L.R., MONTGOMERY, M.E., BOWERS, W.S., Ant aphid association: the role of aphid alarm pheromone. *Science*, 192: p. 1349, **1976**
27. KARLSON, P., LÜSCHER, M., Pheromones, a new term for a class of biologically active substances. *Nature*, 183: p. 55, **1959**

28. RAY, A.M., MILLAR, J.G., McELFRESH, J.S., SWIFT, I.P., BARBOUR, J.D., HANKS, L.M., Male-Produced Aggregation Pheromone of the Cerambycid Beetle *Rosalia funebris*. *J. Chem. Ecol.*, 35: p. 96, **2009**
29. MOSER, J.C., Contents and structure of *Atta texana* nest in summer. *Ann. Ent. Soc. Am.*, 56: p. 286, **1968**
30. WILSON, E.O., A chemical releaser of alarm and digging behaviour in the ant *Pogonimyrme badius* (Latreille). *Physche*, 65: p. 41, **1958**
31. BLUM, M.S., The chemical basis of insect sociality, *Em M. BEROZA*, Chemical controlling insect behaviour, Academic Press, New York, **1970**
32. SEENIVASAGAN, T., SHARMA, K.R., SEKHAR, K., GANESAN, K., PRAKASH, S., VIJAYARAGHAVAN, R., Electroantennogram, flight orientation and oviposition responses of *Aedes aegypti* to the oviposition pheromone *n*-heneicosane. *Parasitology Research*, 104(4): p. 827, **2009**
33. HOLMAN, L., JORGENSEN, C.G., NIELSEN, J., d'ETTORRE, P., Identification on an ant queen pheromone regulating worker sterility. *Proc. R. Soc. B*, 227, **2010**
34. JARAU, S., SCHULZ, C.M., HRNCIR, M., FRANCKE, W., ZUCCHI, R., BARTH, F.G., AYASSE, M., Hexyl Decanoate, the first trail pheromone compound identified in a stingless bee, *Trigona recursa*. *J. Chem. Ecol.*, 32(7): p. 1555, **2006**
35. ZHANG, A., ROBBINS, P.S., LEAL, W.S., LINN, C.E.J., VILLANI, M.G., ROELOFS, W.L., Essential amino acid methyl esters: major sex pheromone components of the cranberry white grub, *Phyllophaga anxia* (Coleoptera, Scarabaeidae). *J. Chem. Ecol.*, 23: p. 231, **1997**
36. FUKAYA, M., YASUDA, T., WAKAMURA, S., HONDA, H., Reproductive biology of the yellow-spotted longicorn beetle, *Psacotha hilaris* (pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae). III. Identification of contact sex pheromone on female body surface. *J. Chem. Ecol.*, 22: p. 259, **1996**
37. ZHANG, A., FACUNDO, H.T., ROBBINS, P.S., LINN JR., C.E., HANULA, J.L., VILLANI M., G., ROELOFS, W.L., Identification and synthesis of female sex pheromone of Oriental beetle, *Anomala orientalis* (Coleoptera: Scarabaeidae). *J. Chem. Ecol.*, 20: p. 2415, **1994**
38. HILKER, M., KOBBS, C., VARAMA, M., SCHRANK, K., Insect egg deposition induces *Pinus sylvestris* to attract egg parasitoids. *The Journal of Experimental Biology*, 205: p. 455, **2002**

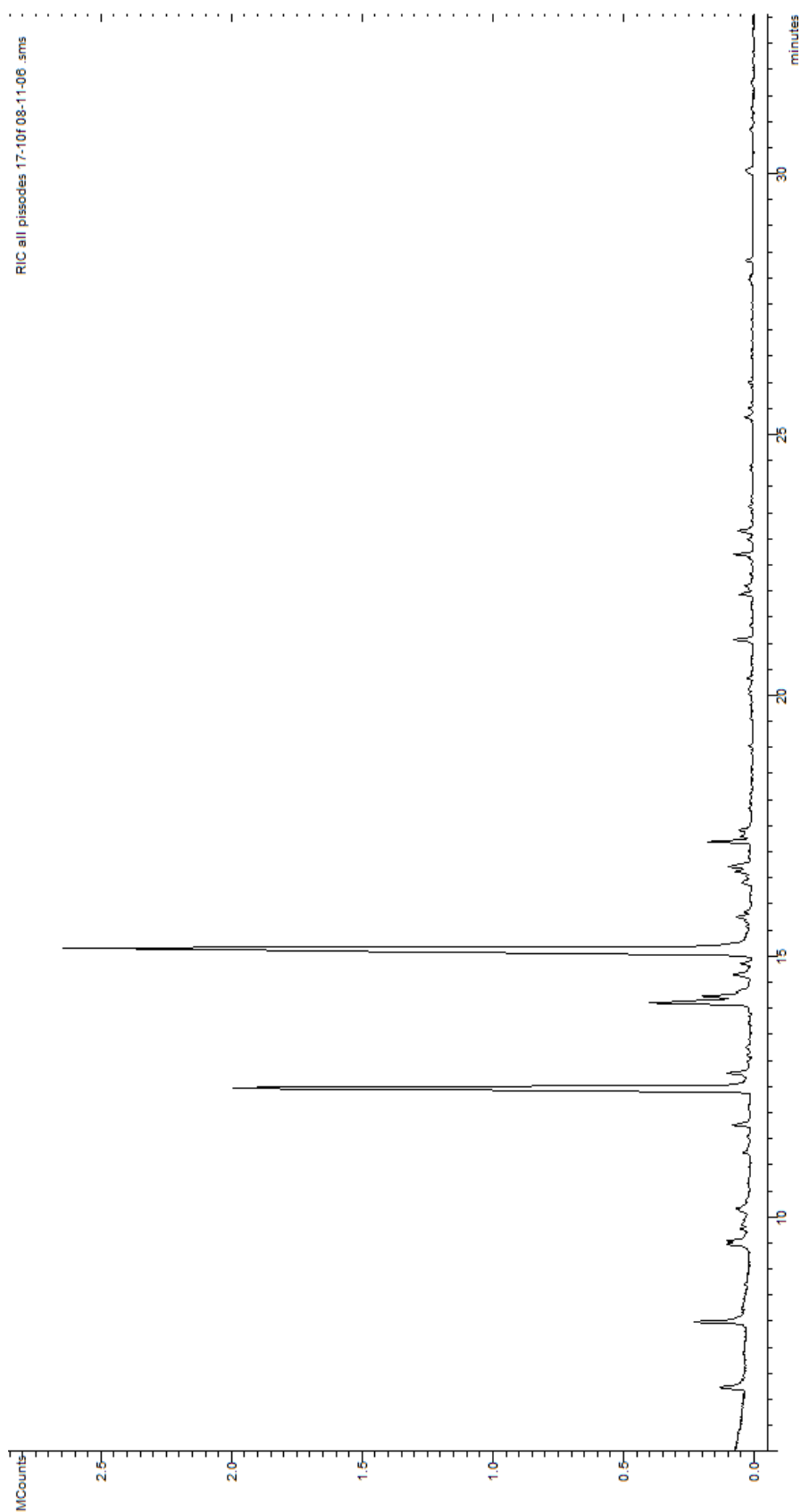
39. HILKER, M., MEINERS, T., Induction of plant responses to oviposition and feeding by herbivorous arthropods: a comparison. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 104: p. 181, **2002**
40. SCHRÖDER, F., Induced Chemical Defense in Plants. *Angew. Chemie Int.*, 37: p. 1213, **1998**
41. FRATI, F., CHAMBERLAIN, K., BIRKETT, M., DUFOUR, S., MAYON, P., WOODCOCK, C., WADHAMS, L., PICKETT, J., SALERNO, G., CONTI, E., BIN, F., *Vicia faba*-*Lygus rugulipennis* interactions: induced plant volatiles and sex pheromone enhancement. *J. Chem. Ecol.*, 35: p. 201, **2009**
42. BEDARD, W.D., TILDEN, P.E., WOOD, D.L., SILVERSTEIN, R.M., BROWNLEE, R.G., RODIN, J.O., Western pine beetle: field response to its sex pheromone and a synergistic host terpene, Myrcene. *Science*, 164(3885): p. 1284, **1969**
43. SOLOMONS, T.W.G., Organic chemistry, New York: John Wiley & Sons, **1996**
44. GREENWAY, A.R. Some chemical and entomological problems in the investigation and use of behaviour-controlling chemicals. em *International Conference on Biological Activity*. **1975**. New York: Academic Press.
45. MILLAR, J.G., SIMS, J.J., Preparation, cleanup, and preliminary fractionation of extracts, Em J.G. Millar, Haynes, K.F., Methods in chemical ecology, Chapman & Hall, Norwell, **1998**
46. WENDLER, E.P., Síntese e Avaliação de Infoquímicos de *Biabrotica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae). Tese (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, **2006**
47. MIROV, N.T., The genus Pinus, New York: Ronald Press, **1967**
48. RICHARDSON, D.M., Ecology and Biogeography of *Pinus*: Cambridge University Press, **1998**
49. AHRENS, S., Manejo e silvicultura de plantações de *Pinus* na pequena propriedade rural, Em A.P.M. GALVÃO, Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivos e ambientais: um guia para ações municipais e regionais, *Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia*, Brasília. p. 219, **2000**
50. IEDE, E.T., REIS FILHO, W., PENTEADO, S.R.C., Ocorrência de *Pissodes castaneus* (De Geer) (Coleoptera: Curculionidae) em Pínus, na Região Sul do Brasil. *Embrapa: Comunicado Técnico*, **2004**
51. CARDOSO, J.T., LÁZZARI, S.M.N., FREITAS, S., IEDE, E.T., Ocorrência e flutuação populacional de *Chrysopidae* (Neuroptera) em áreas de plantio de

- Pinus taeda* (L.) (Pinaceae) no sul do Paraná. *Revista Brasileira de Entomologia*, 47(3): p. 473, **2003**
52. IEDE, E.T., PENTEADO, S.R.C., SCHAITZA, E., Programa nacional de controle a vespa-da-madeira no Brasil, Training in the control of *Sirex noctilio* by the use of natural enemies, USDA Forest Service, Morgantown, **1998**
53. LAZZARI, S.M.N., ZONTA-DE-CARVALHO, R.C. Aphids (Hemiptera, Aphididae, Lachninae, Cinarini) on *Pinus* spp. and *Curessus* sp. in Southern Brazil. em *XXI International Congress of Entomology*. **2000**. Foz do Iguaçu, PR.
54. IEDE, E.T., LAZZARI, S.M.N., PENTEADO, S.R.C., ZONTA-DE-CARVALHO, R.C., TRENTINI, R.F.R. Ocorrência de *Cinara pinivora* (Homoptera, Aphididae, Lachninae) em reflorestamentos de *Pinus* spp. no Sul do Brasil. em *Congresso Brasileiro de Zoologia*. **1998**. Recife, PE.
55. VÁZQUEZ-YANES, C., MUÑOZ, A.I.B., SILVA, M.I.A., DÍAZ, M.G., DIRZO, C.S., Árboles y arbustos pontencialmente valiosos para la restauración y la reforestación. Reporte Técnico del proyecto J084, México, D.F.: CONABIO, **1999**
56. VAN WYK, G., *Pinus caribaea*, Pines of Silvicultural Importance, CABI Publishing, New York, **2002**
57. U.S.D.A, The Encyclopedia of Wood, New York: Skyhorse Publishing, **2007**
58. BARNETT, J.P., *Pinus elliottii*, Pines of Silvicultural Importance, CABI Publishing, New York, **2002**
59. FELGER, R.S., JOHNSON, M.B., WILSON, M.F., The trees of Sonora, Mexico, New York: Oxford University Press, **2001**
60. SHIMIZU, J.Y., Cultivo do *Pinus*. *Sistemas de Produção, Embrapa Florestas*, 5, **2005**
61. ECKENWALDER, J.E., Conifers of the World: The Complete Reference, Portland: Timber Press, **2009**
62. SCHULTZ, R., Loblolly Pine: The Ecology and Culture of Loblolly Pine (*Pinus taeda* L.). Agricultural Handbook: U.S. Department of Agriculture, **1997**
63. MARVALDI, A.E., LANTERI, A.A., Key to higher taxa of South American weevils based on adult characters (Coleoptera: curculionoidea). *Revista Chilena de Historia Natural*, 78: p. 65, **2005**
64. KUSCHEL, G., A phylogenetic classification of Curculionoidea to families and subfamilies. *Memoirs of the Entomological Society of Washington*, **1995**
65. JOLY, C.A., BICUDO, C.E.M., Invertebrados Terrestres. Biodiversidade no Estado de São Paulo: Síntese do Conhecimento ao Final do Século XX, São Paulo: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, **1999**

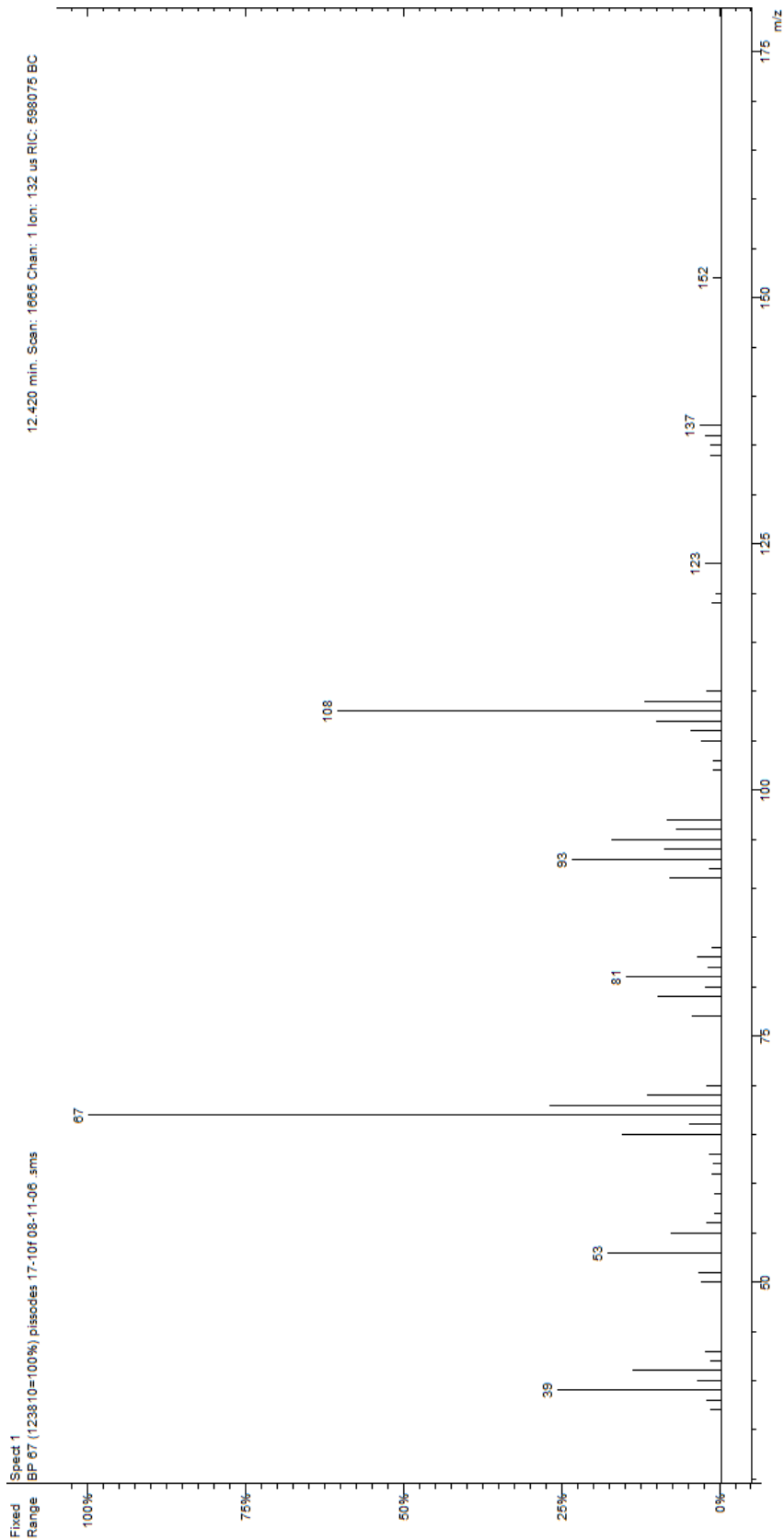
66. ANANTHAKRISKNAN, T.N., General and Applied Entomology, Delhi: Tata McGraw-Hill, **2004**
67. AMBROGI, B.G., VIDAL, D.M., ZARBIN, P.H.G., ROSADO-NETO, G.H., Feromônios de Agregação em Curculionidae (insecta: coleoptera) e sua implicação taxonômica. *Quim. Nova*, 32(8): p. 2151, **2009**
68. ELLER, F.J., BARTELT, R.J., Grandisoic Acid, a male-produced aggregation pheromone from the plum curculio, *Conotrachelus nenuphar*. *J. Nat. Prod.*, 59(4): p. 451, **1996**
69. BLIGHT, M.M., PICKETT, J.A., SMITH, M.C., WADHAMS, L.J., An aggregation pheromone of *Sitona lineatus*. *Naturwissenschaften*, 71(9): p. 480, **1984**
70. COULSON, R.N., Cap: Terminal, shoot, twig and root insects, Forest Entomology, John Willey & Sons, New York. p. 465, **1984**
71. KENIS, M., WEGENSTEINER, R., GRIFFIN, C.T., Parasitoids, predators, nematodes and pathogens associated with bark weevil pests, *Em F. LIEUTIER, DAY, K.R., BATTISTI, A., GRÉGOIRE, J.C., EVANS, H.F.*, Bark and wood boring insects in living trees in Europe: a synthesis, Springer, Dordrecht. p. 401, **2007**
72. PHILLIPS, T.W., WEST, J.R., FOLTZ, J.L., SILVERSTEIN, R.M., LANIER, G.N., Aggregation pheromone of the deodar weevill, *Pissodes nemorensis* (Coleoptera: Curculionidae): Isolation and activity of grandisol and grandisal. *J. Chem. Ecol.*, 10(10): p. 1417, **1984**
73. HIBBARD, B.E., WEBSTER, F.X., Enantiomeric composition of grandisol and grandisal produced by *Pissodes strobi* and *P. nemorensis* and their electroantennogram response to pure enantiomers. *J. Chem. Ecol.*, 10, **1994**
74. PLATA-NEGRACHE, P., PRENDES-AYALA, C., Contribución al conocimiento de la bioecología de *Pissodes notatus* F., en las poblaciones de pinos de Canarias. *Boletín de la Estacion Centra de Ecologia*, 8: p. 33, **1979**
75. GREZ, O.R., FONTECILLA, L.F., NUNEZ, R.A., NUNEZ, C.R.A., KIRWOOD, F.G., TORRES, G.H., Manual de plagas cuarentenárias potencialmente daninas para o Chile com especial énfasis em plantaciones de pino y eucalipto, Chile: Controladora de Plagas Forestales S.A. 84, **2000**
76. ABGRALL, J.F., VILLÉN GONZÁLES, V., PORCILE, J.F., Biología y control del gorgojo de los pinos (II parte): desde todas las frentes. *Chile forestal*, 25: p. 9, **2000**
77. CISTERNAS, M.B., MARTINEZ, L.C., AUTER, S.H., LFUSCHLOCHER, M.E.L., BANNEN, C.V., Manuela de reconocimiento de plagas forestales

- cuarentenárias, Santiago: Ministério de Agricultura, Servicio Agrícola y Ganadero, **1993**
78. CARTER, C., WATSON, G. The ecology of conifer aphids and its bearing on forest establishment and productivity. em *Workshop on exotic aphid pests of conifers*. **1991**. Muguga, Kenya: FAO.
79. ROMANYK, N., CADAHIA, D., Plagas de insectos de las masas forestales españolas, Madrid: Ministério de Agricultura, Pesca y Alimentación, **1991**
80. TURNQUIST, R.D., ALFARO, R.I., Spruce weevil in British Columbia, Canadian Forestry Service, Pacific Forestry Centre, Vitoria, **1996**
81. ALAUZET, C., Cycle biologique de *Pissodes notatus* (Coleoptera, Curculionidae) dans la region toulousaine (France). *Canadian Entomology*, 109: p. 597, **1977**
82. COBOS, C., RUIZ, R., Problemas fitossanitário de la espécie *Pinus radiata* D. Don em Espana, com especial referencia al País Vasco. *Boletín de Sanidad Vegetal*, 16: p. 37, **1990**
83. ROMANYK, N., CADAHIA, D., Plagas de insectos de las masas forestales españolas, Madrid: Ministério de Agricultura, Pesca y Alimentación, **1981**
84. ZALESKI, S.R.M., *Pissodes castaneus* (De Geer) (Coleoptera, Curculionidae): Bioecologia, feromônio sexual, variabilidade genética e aspectos do monitoramento e controle. Tese (Doutorado em Entomologia) - Departamento de Entomologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, **2009**
85. ADAMS, R.P., Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Espectrometry, Illinois: Allured Publishing Corporation, **2007**
86. GOMES DA SILVA, M.D.R., MATEUS, E.P., MUNHÁ, J., DRAZYK, A., FARRALL, M.H., ROSA PAIVA, M., CHAVES DAS NEVES, H.J., MOSANDL, A., Differentiation of ten pine species from central Portugal by monoterpene enantiomer-selective composition analysis using multidimensional gas chromatography. *Chromatographia*, 53(S-412), **2001**
87. SANTOS, A.M., VASCONCELOS, T., MATEUS, E.P., FARRALL, M.H., GOMES DA SILVA, M.D.R., PAIVA, M.R., BRANCO, M., Characterization of the volatile fraction emitted by phloems of four pinus species by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass espectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1105: p. 191, **2006**

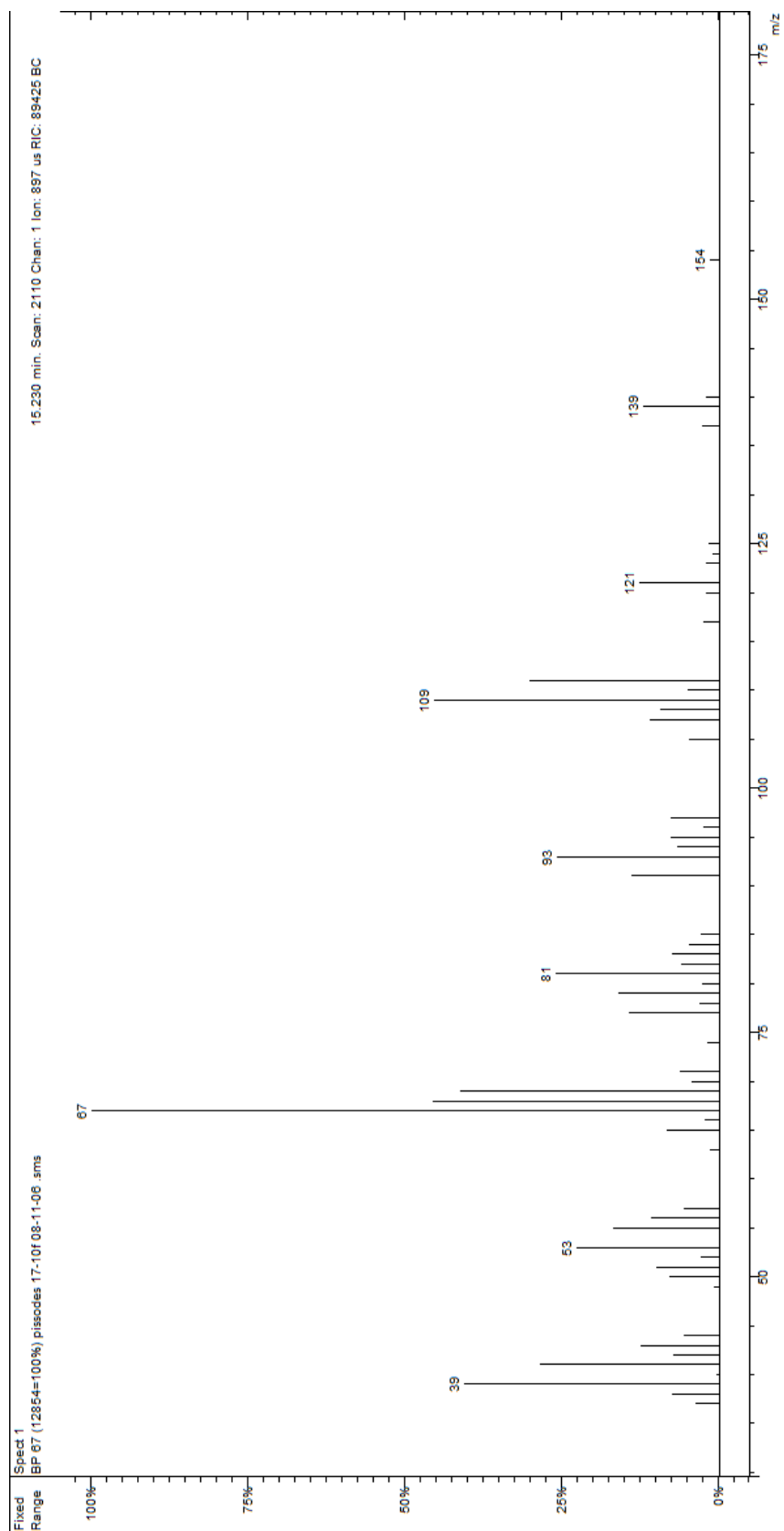
ANEXOS

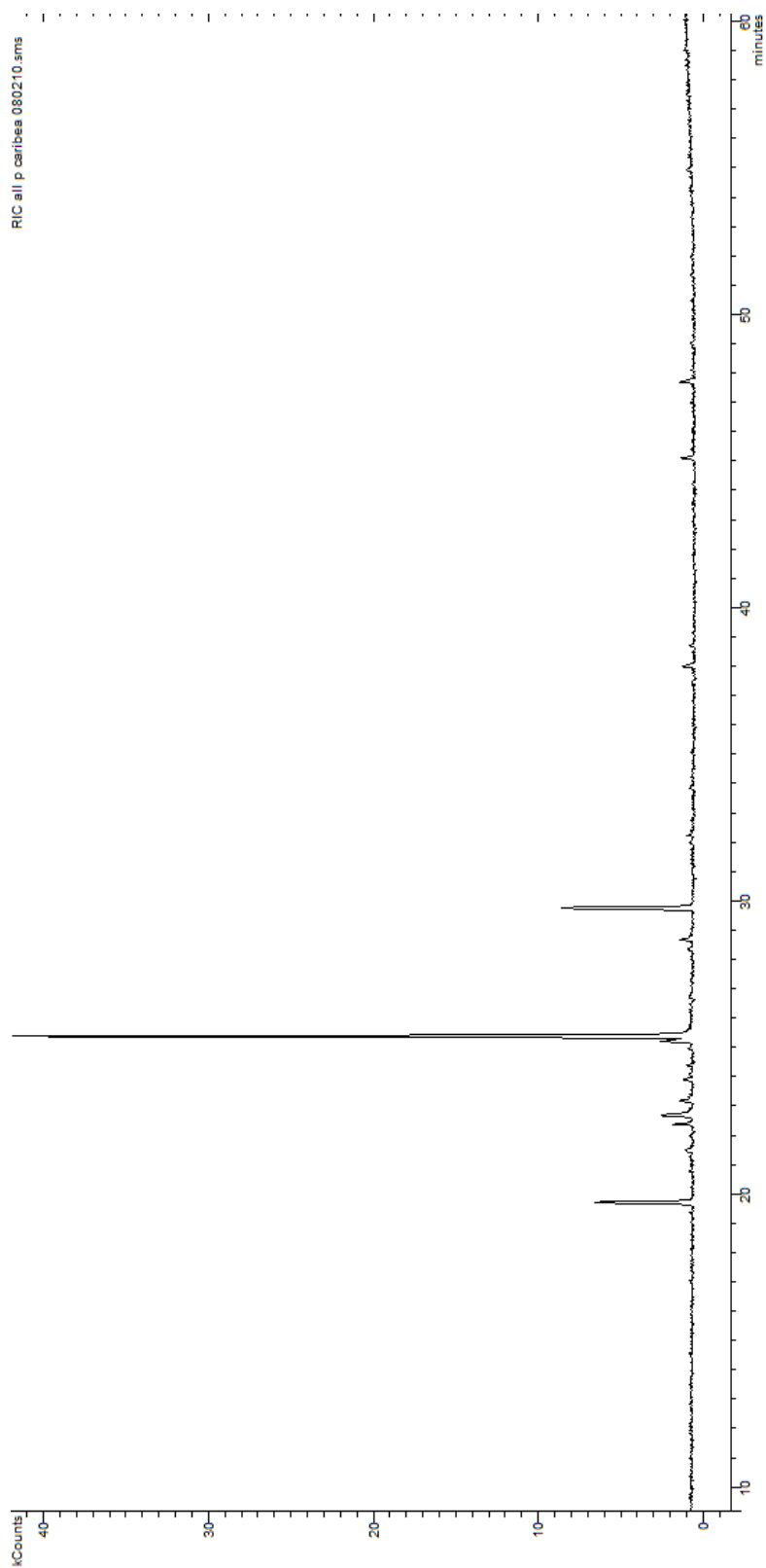
Cromatograma do extrato dos machos de *P. castaneus*

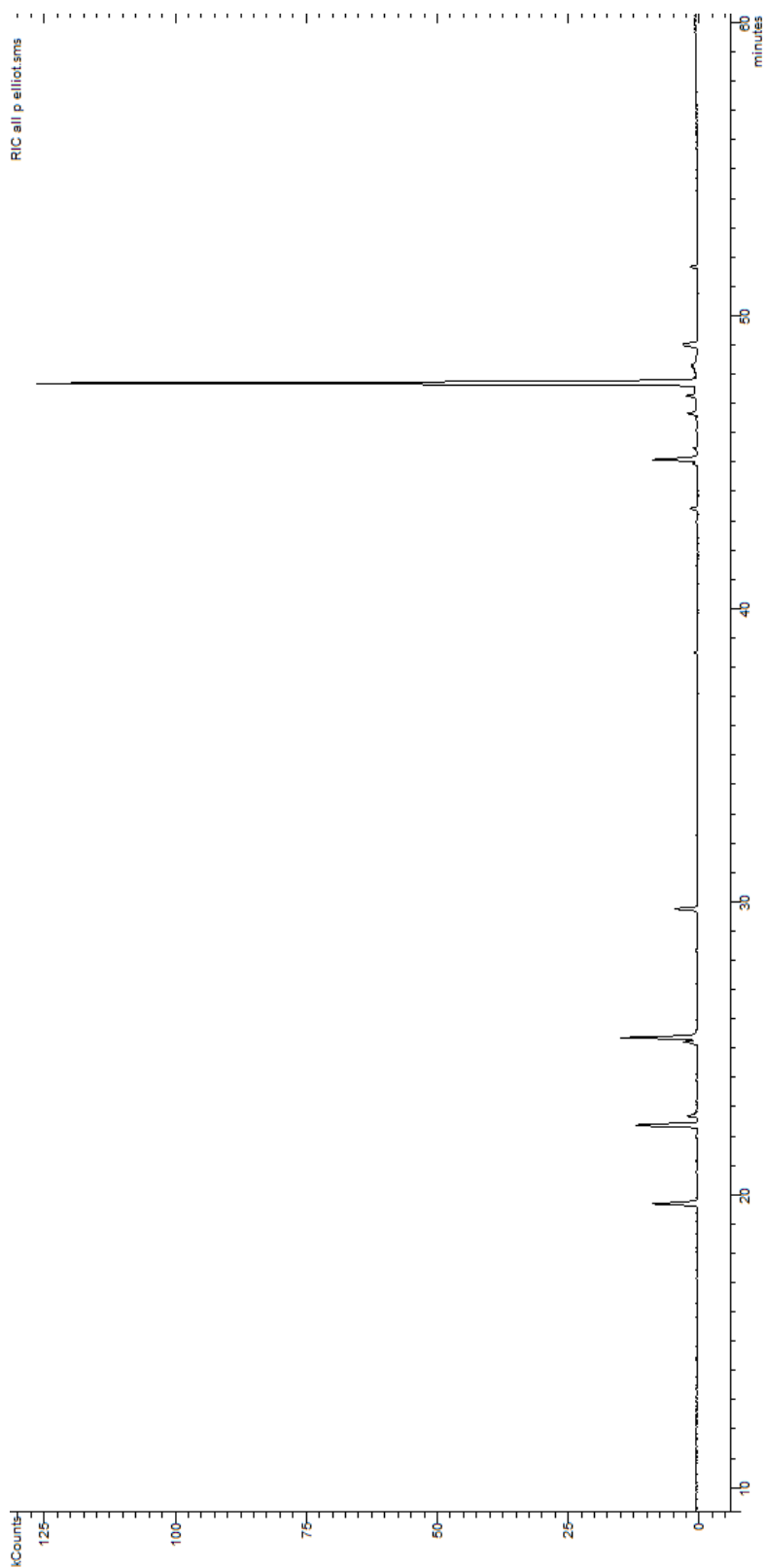
Espectro de massas do grandisal

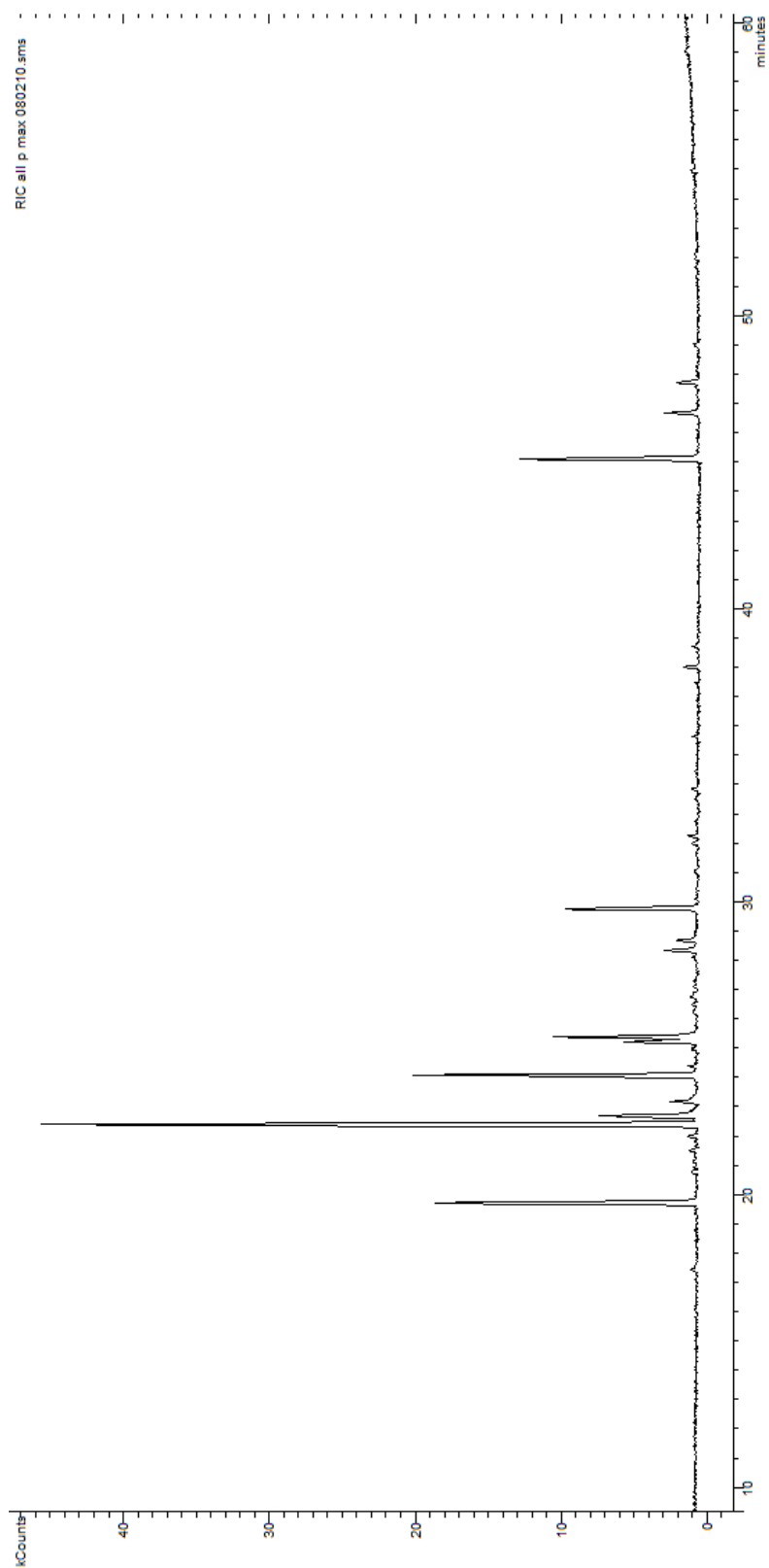


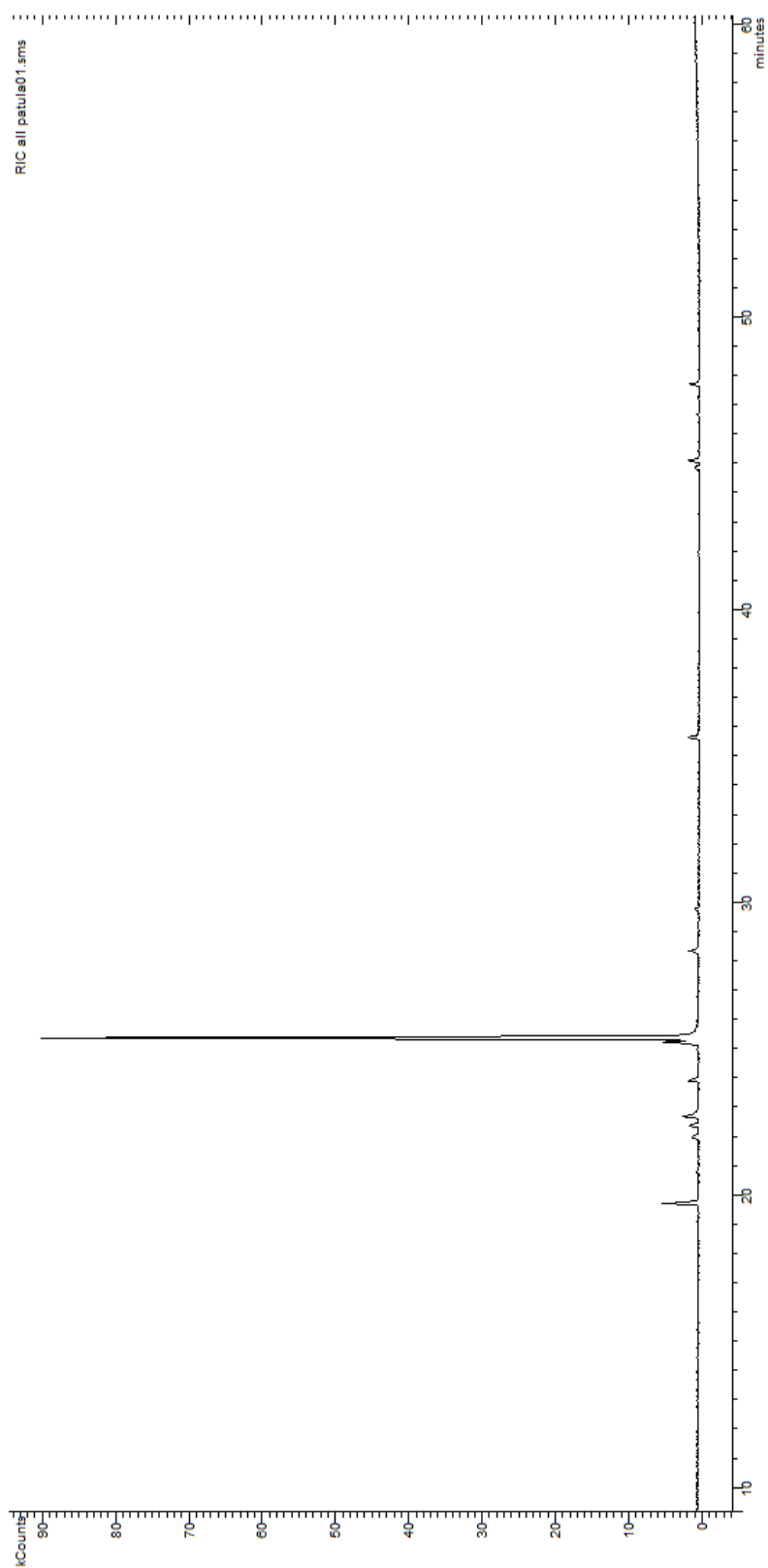
Espectro de Massas do grandisol

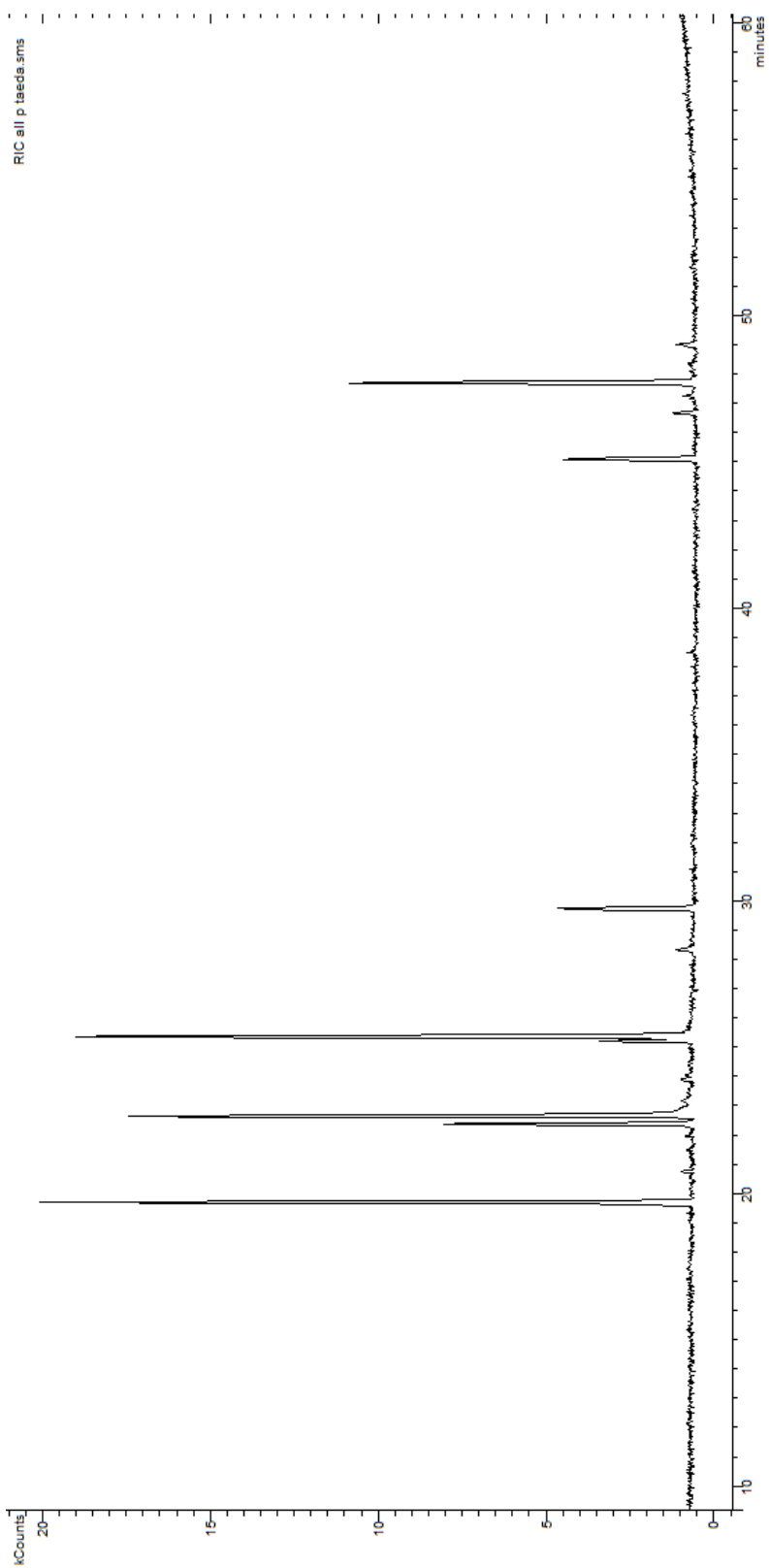


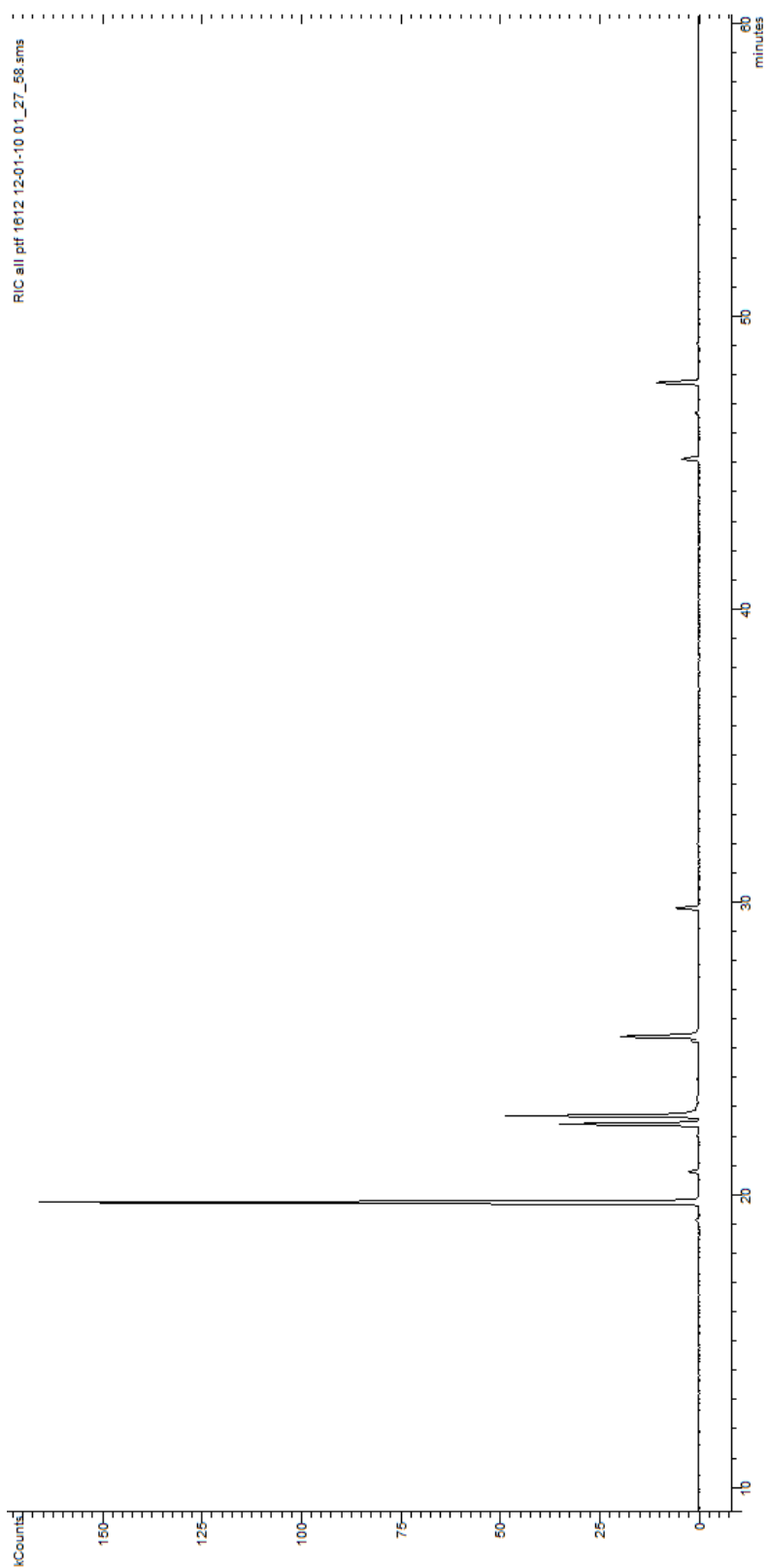
Cromatograma dos voláteis de *P. caribaea*

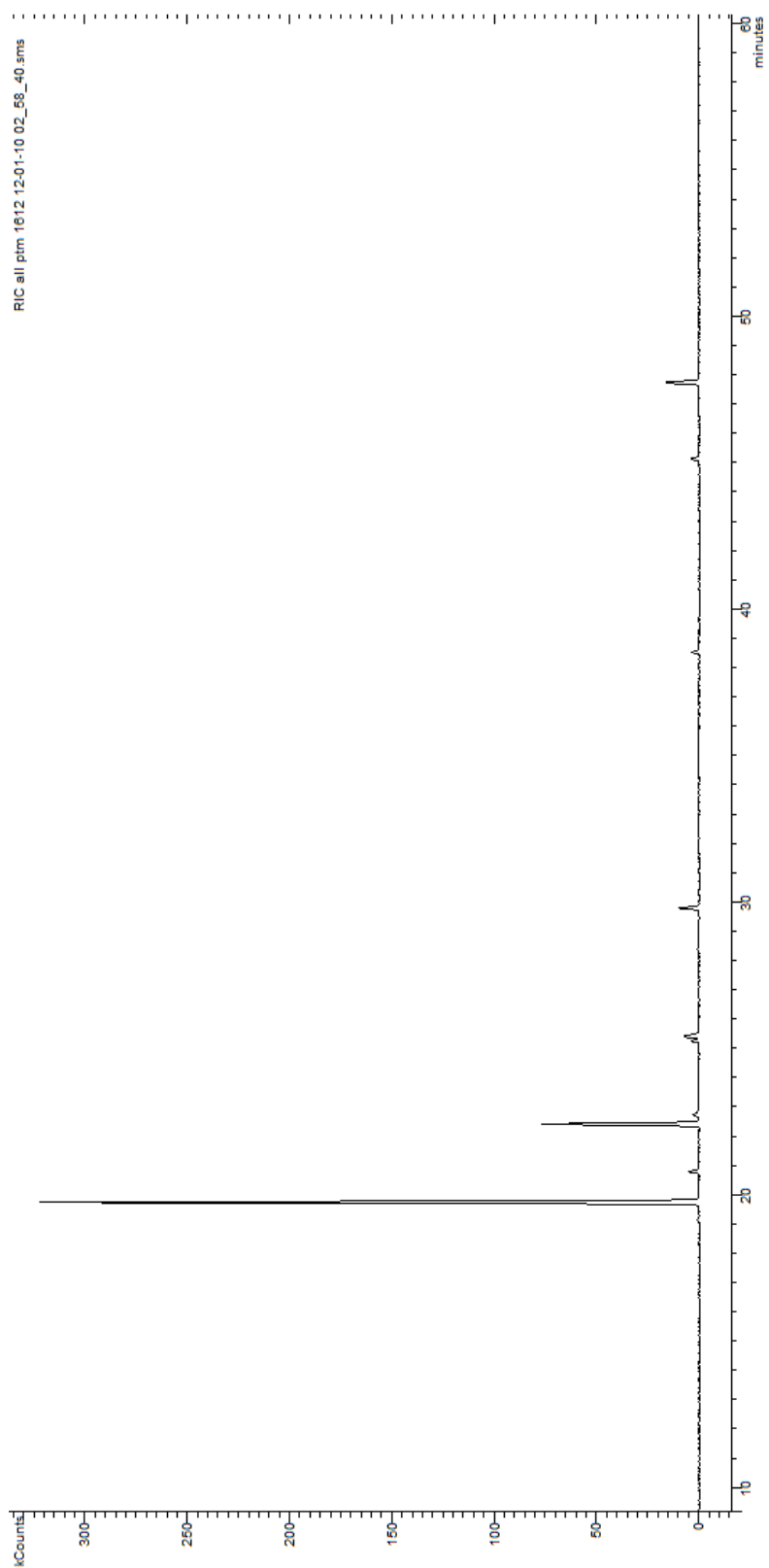
Cromatograma dos Voláteis de *P. elliotii*

Cromatograma dos voláteis de *P. maximinoi*

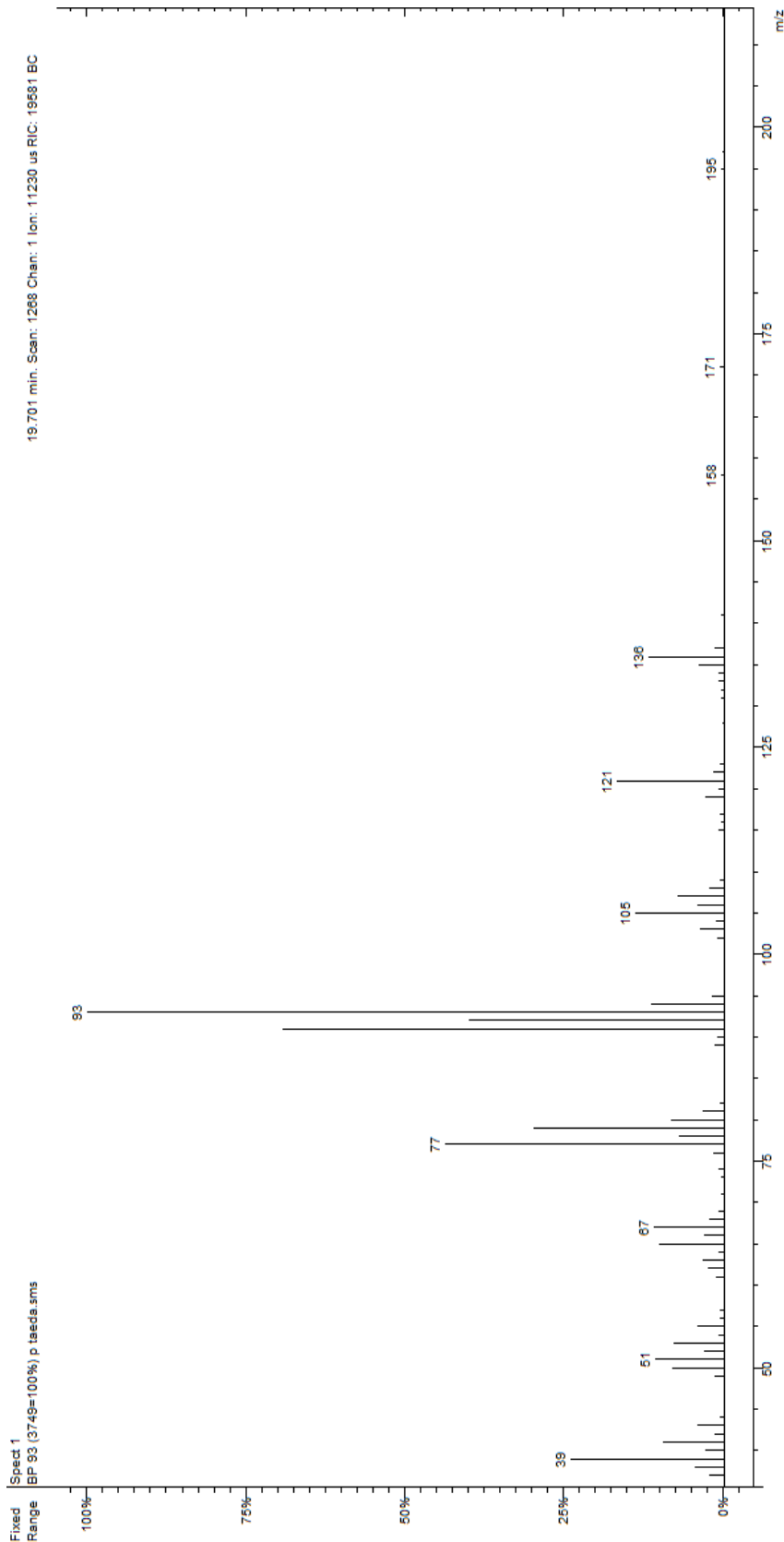
Cromatograma dos voláteis de *P. patula*

Cromatograma dos voláteis de *P. taeda*

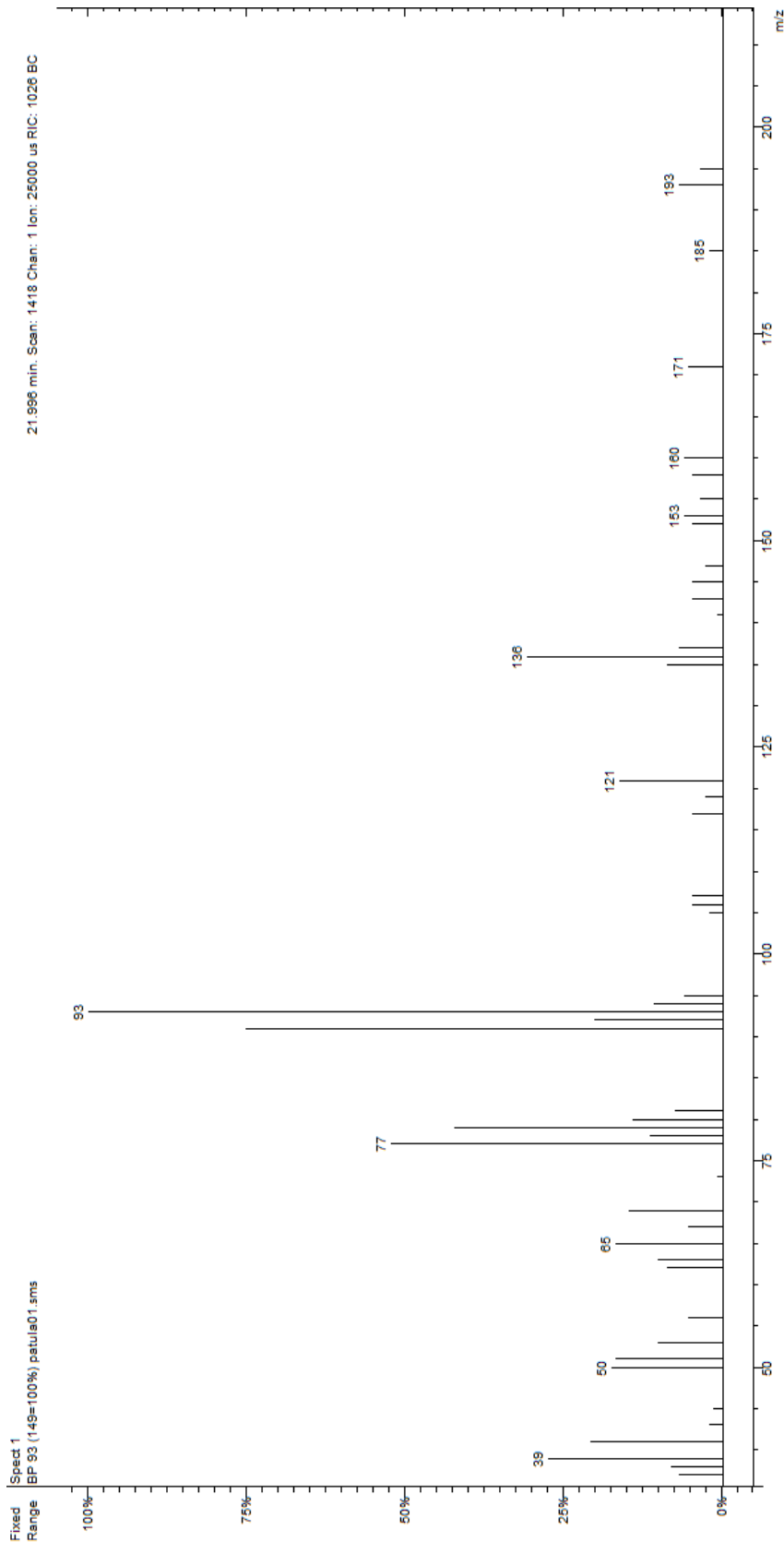
Cromatograma dos voláteis de *P. taeda* induzidos por fêmeas de *P. castaneus*

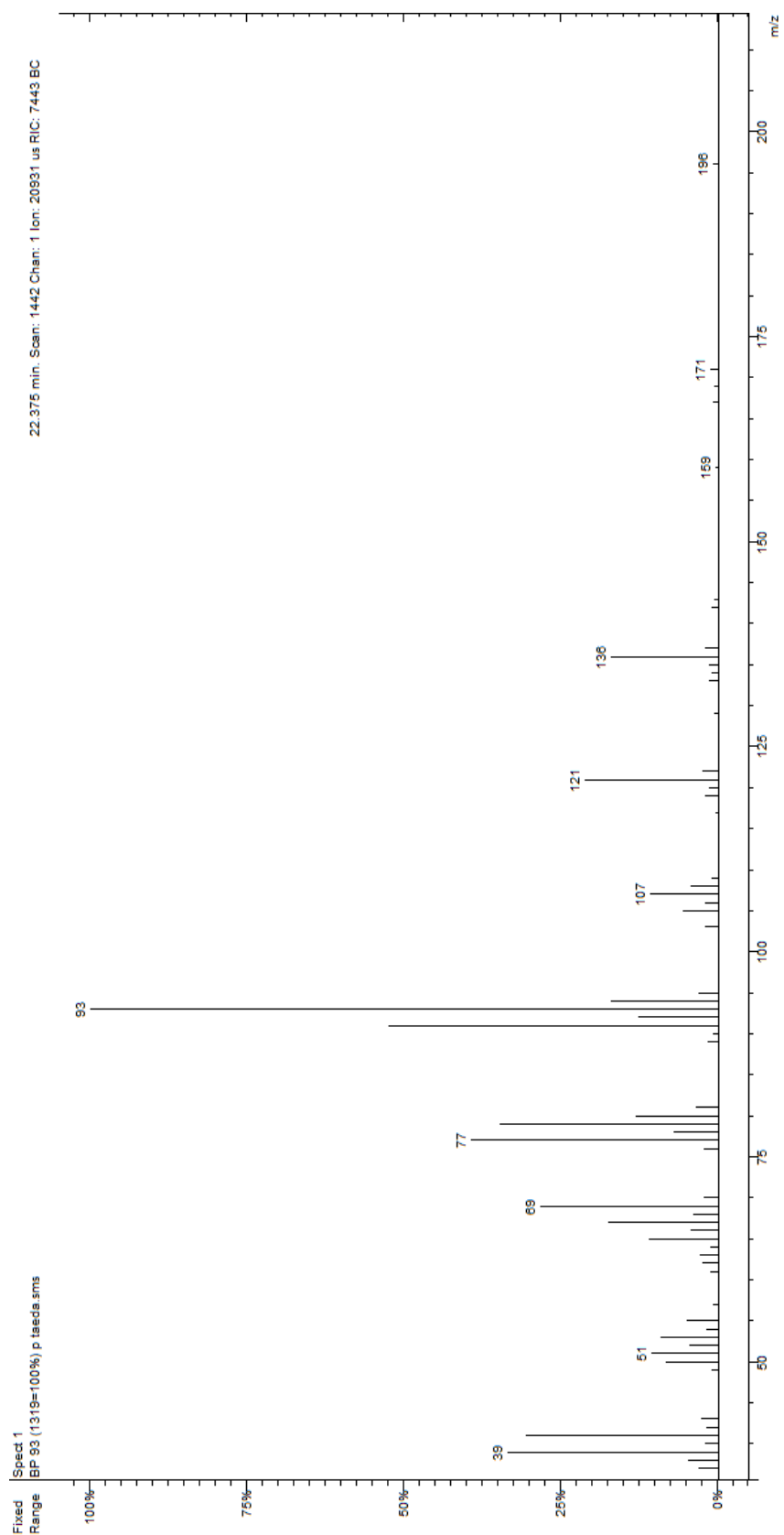
Cromatograma dos voláteis de *P. taeda* induzidos por machos de *P. castaneus*

Espectro de massas do α -pineno

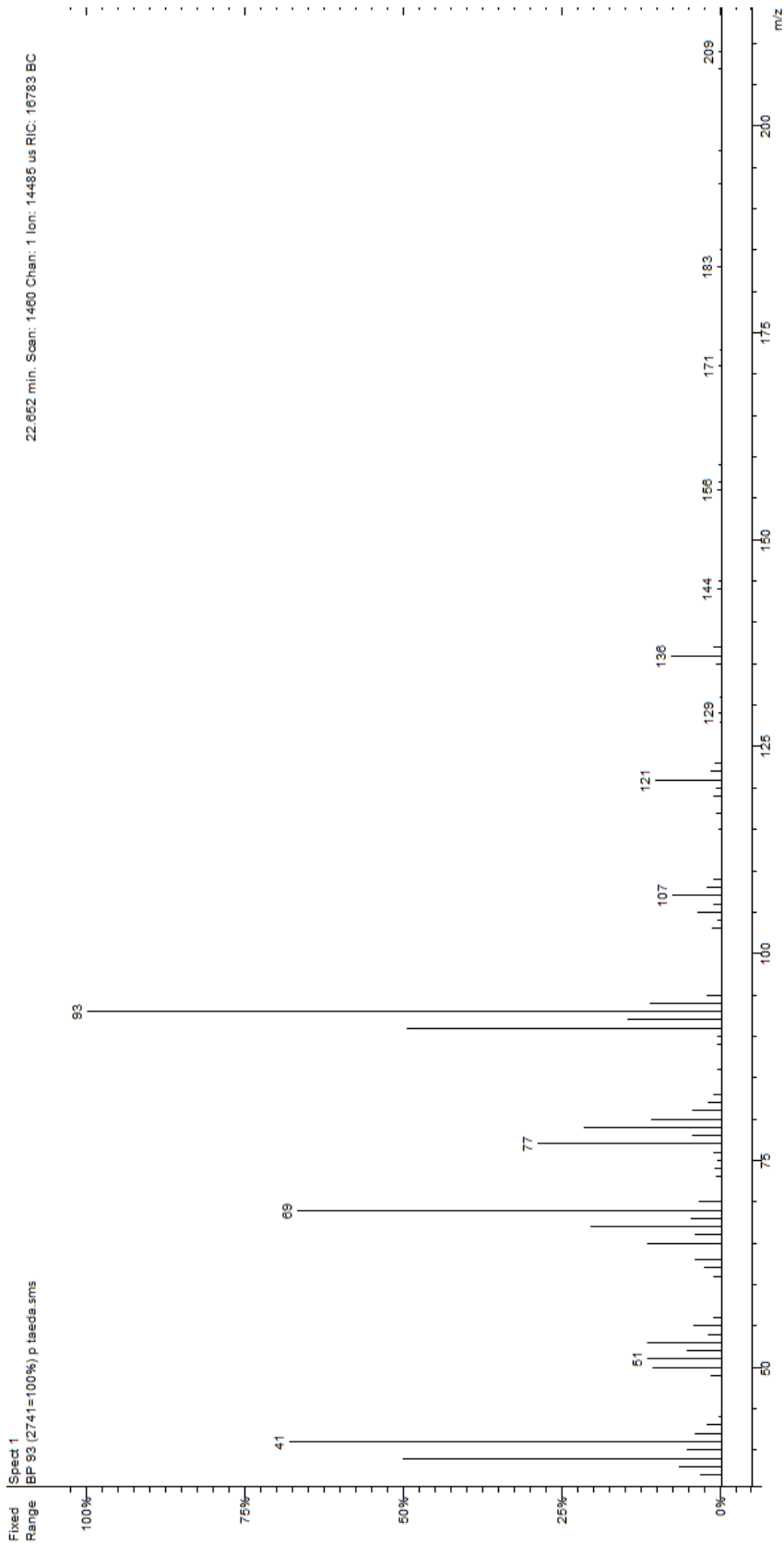


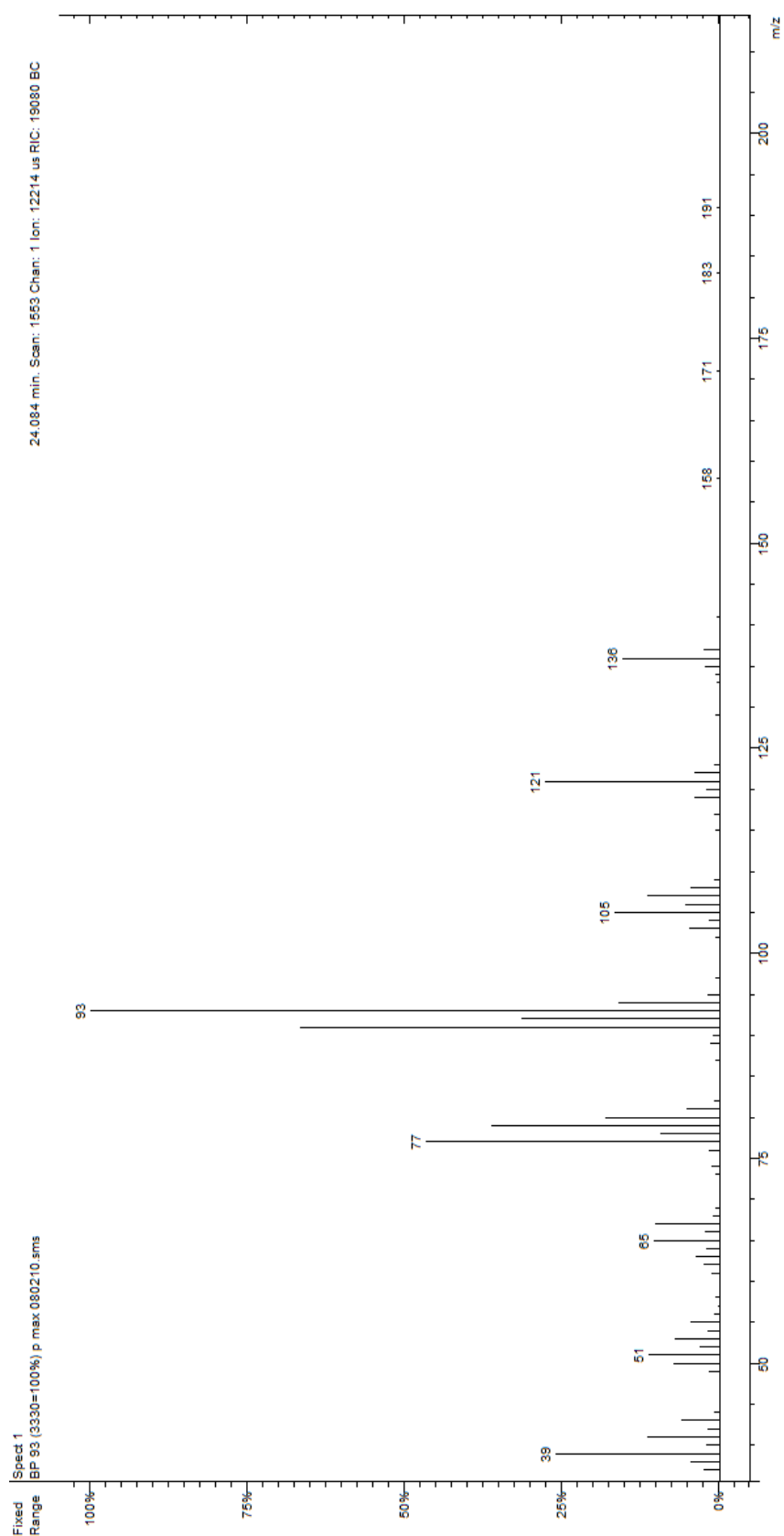
Espectro de massas do sabineno



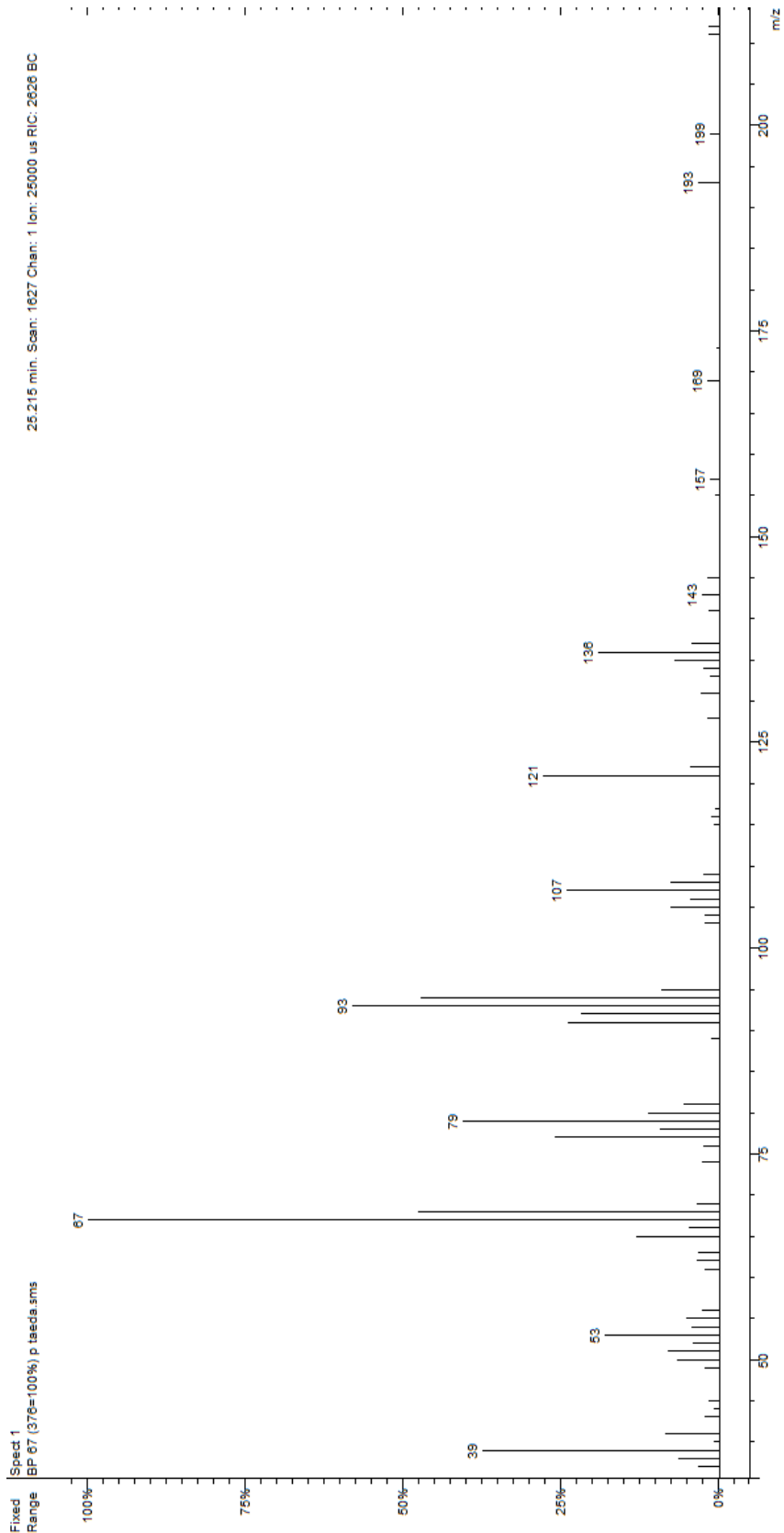
Espectro de massas do β -pineno

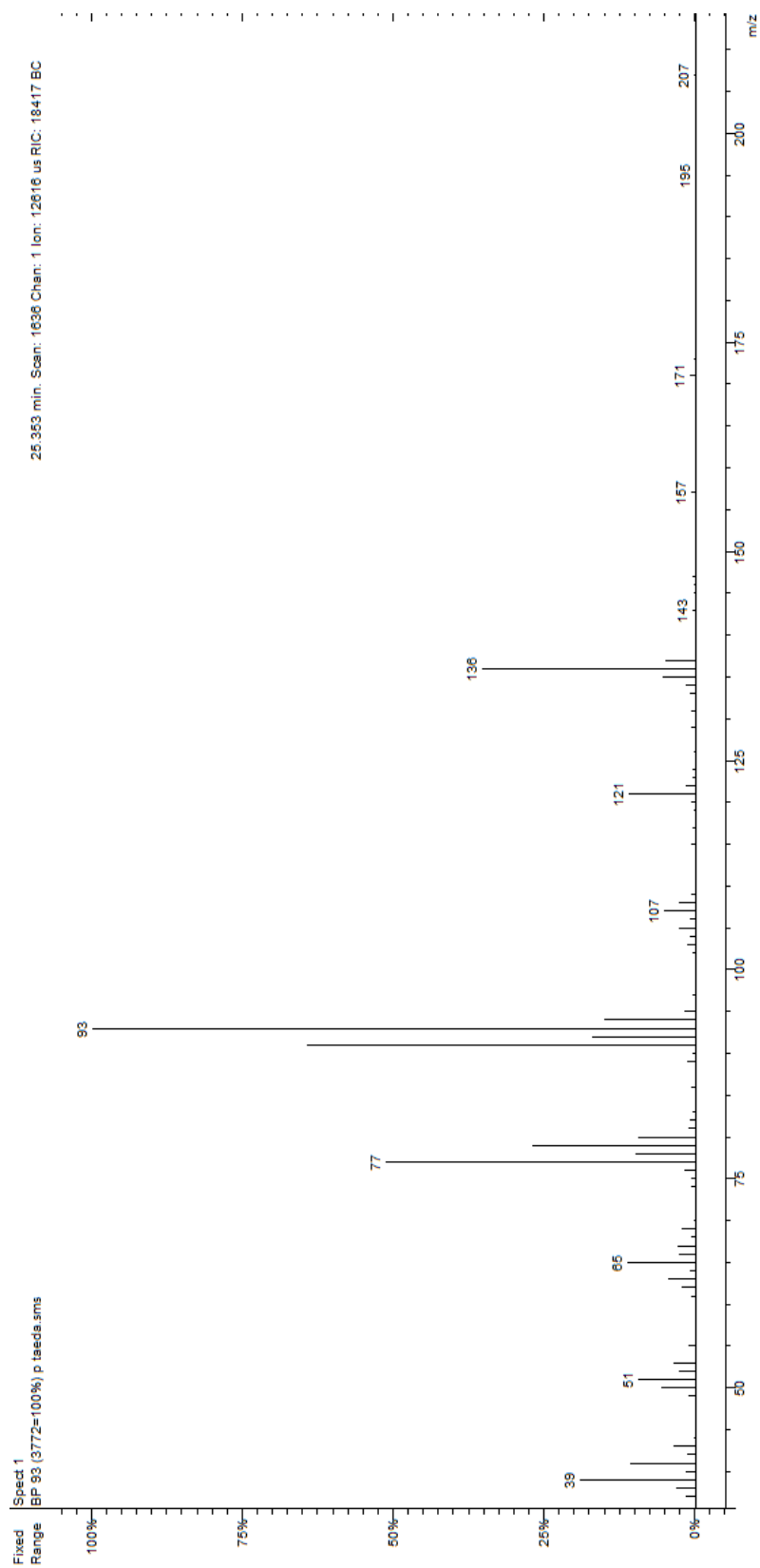
Espectro de massas do mirceno



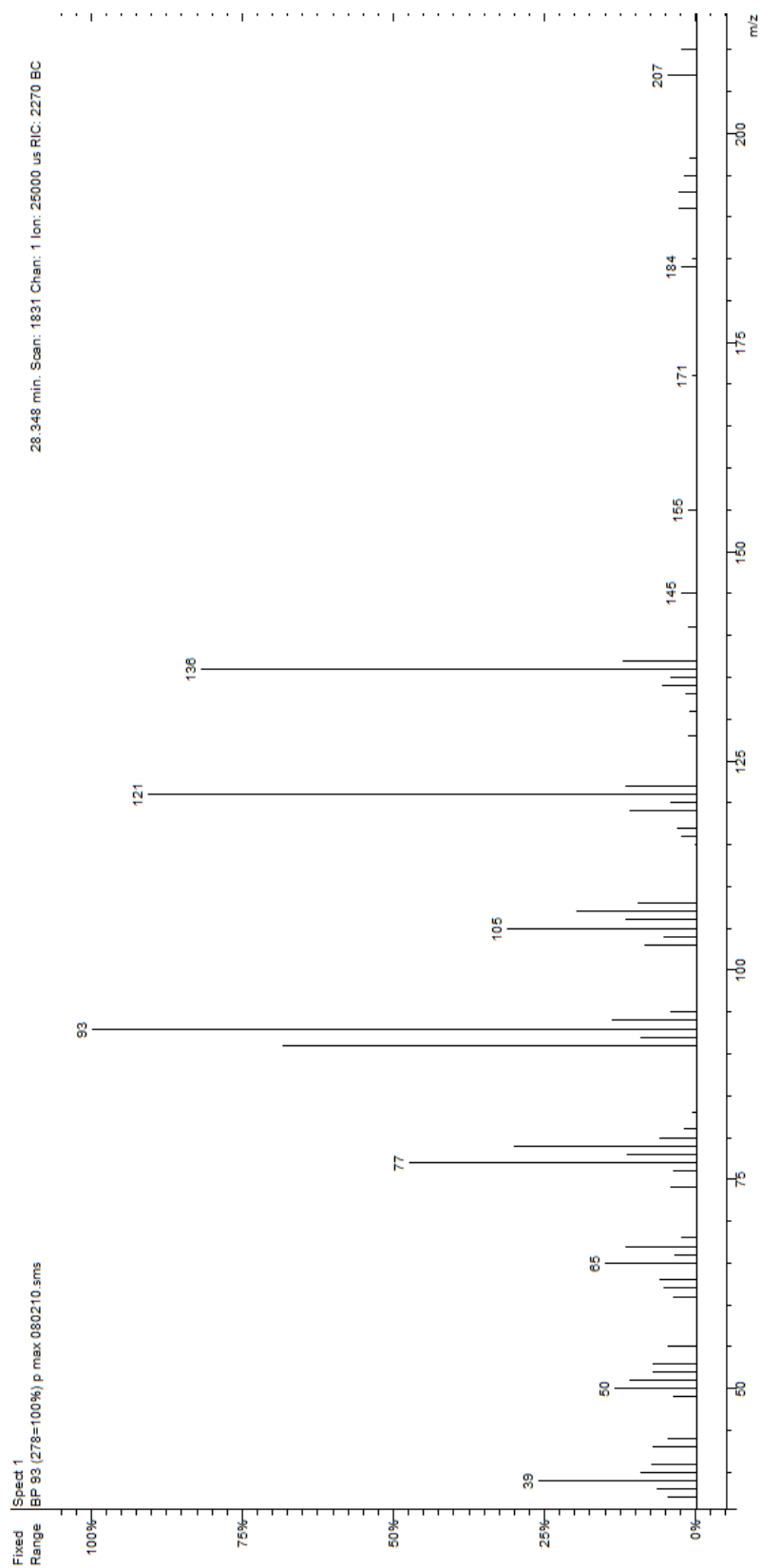
Espectro de massas do δ -2-careno

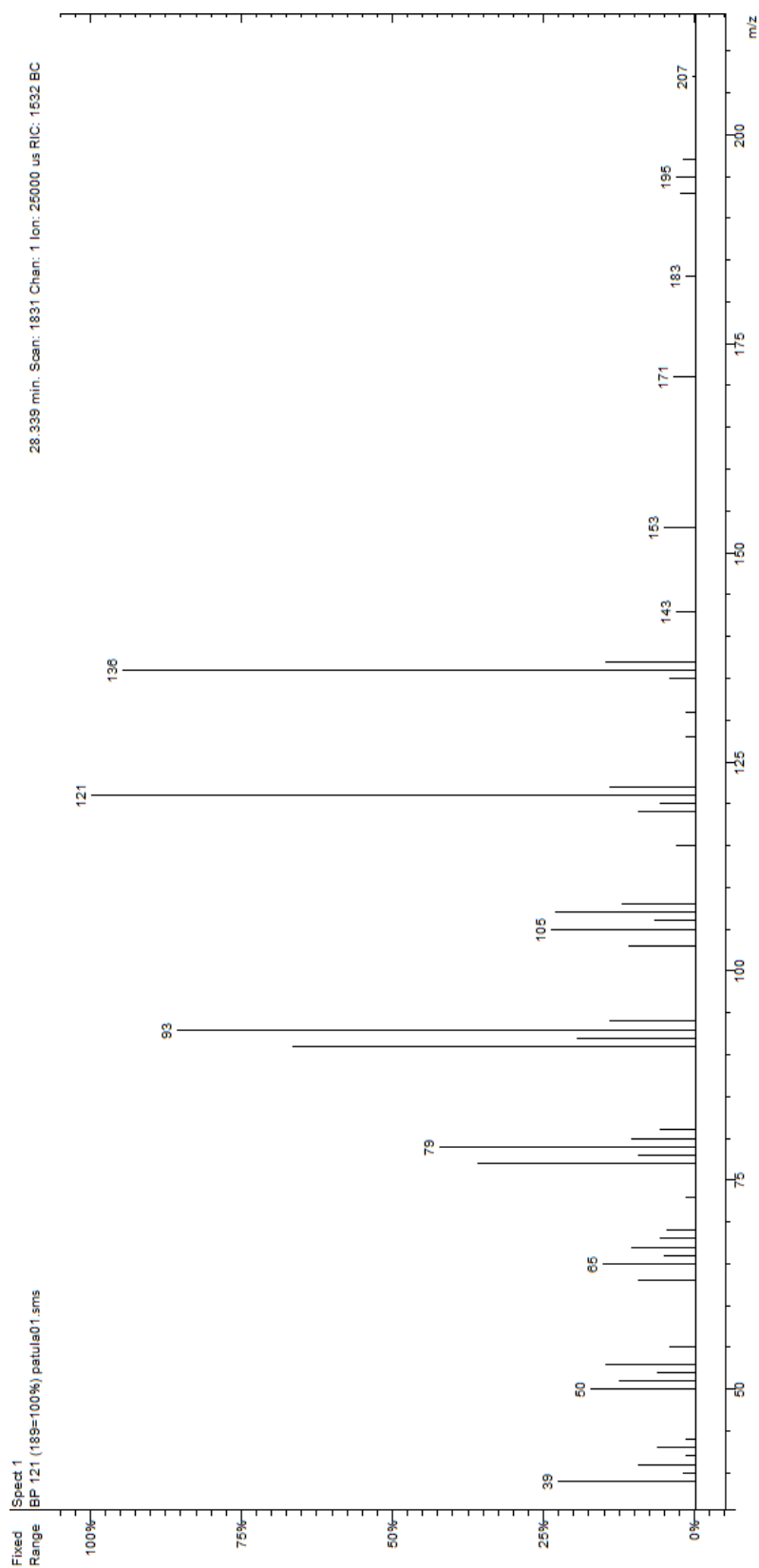
Espectro de massas do limoneno



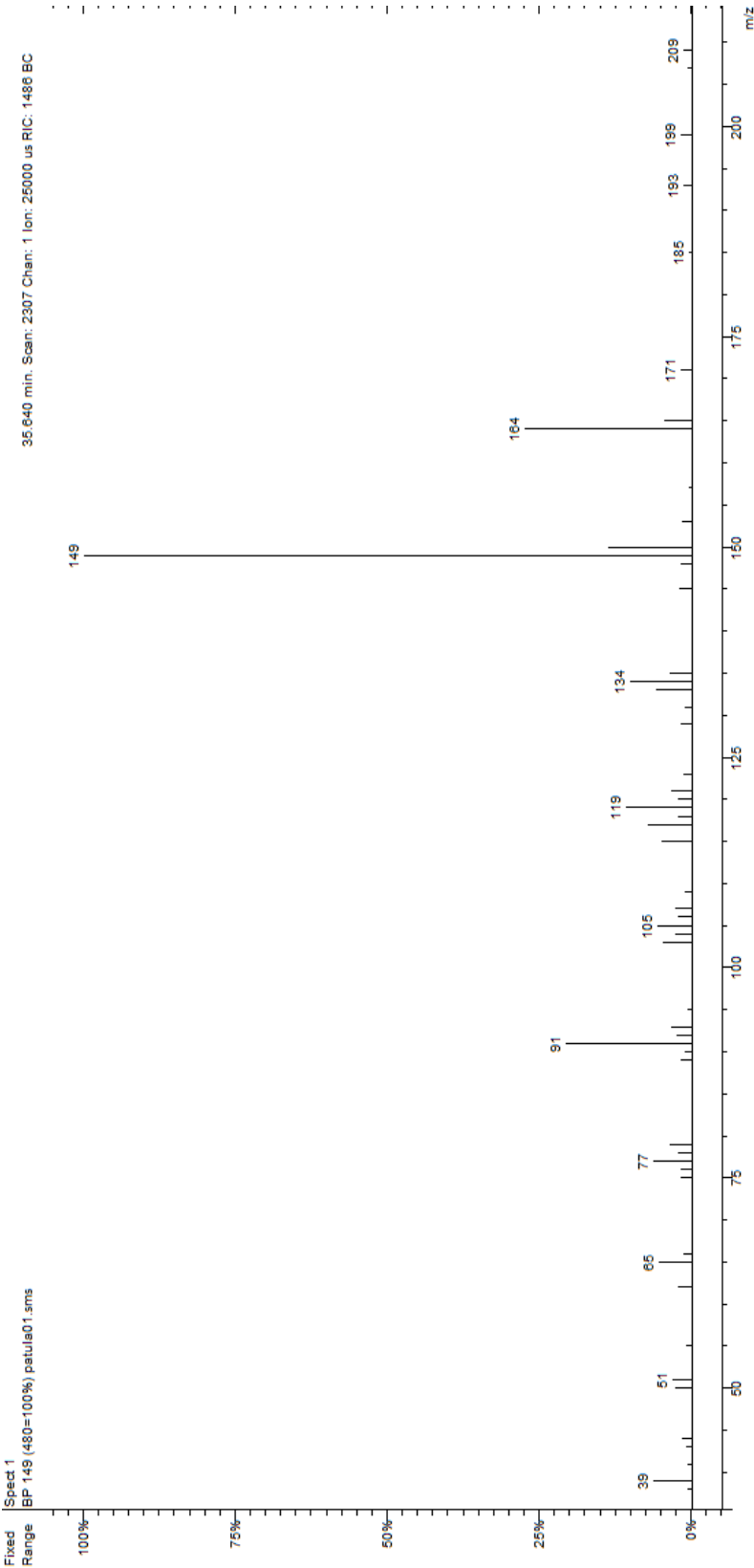
Espectro de massas do β -felandreno

Espectro de massas do terpinoleno

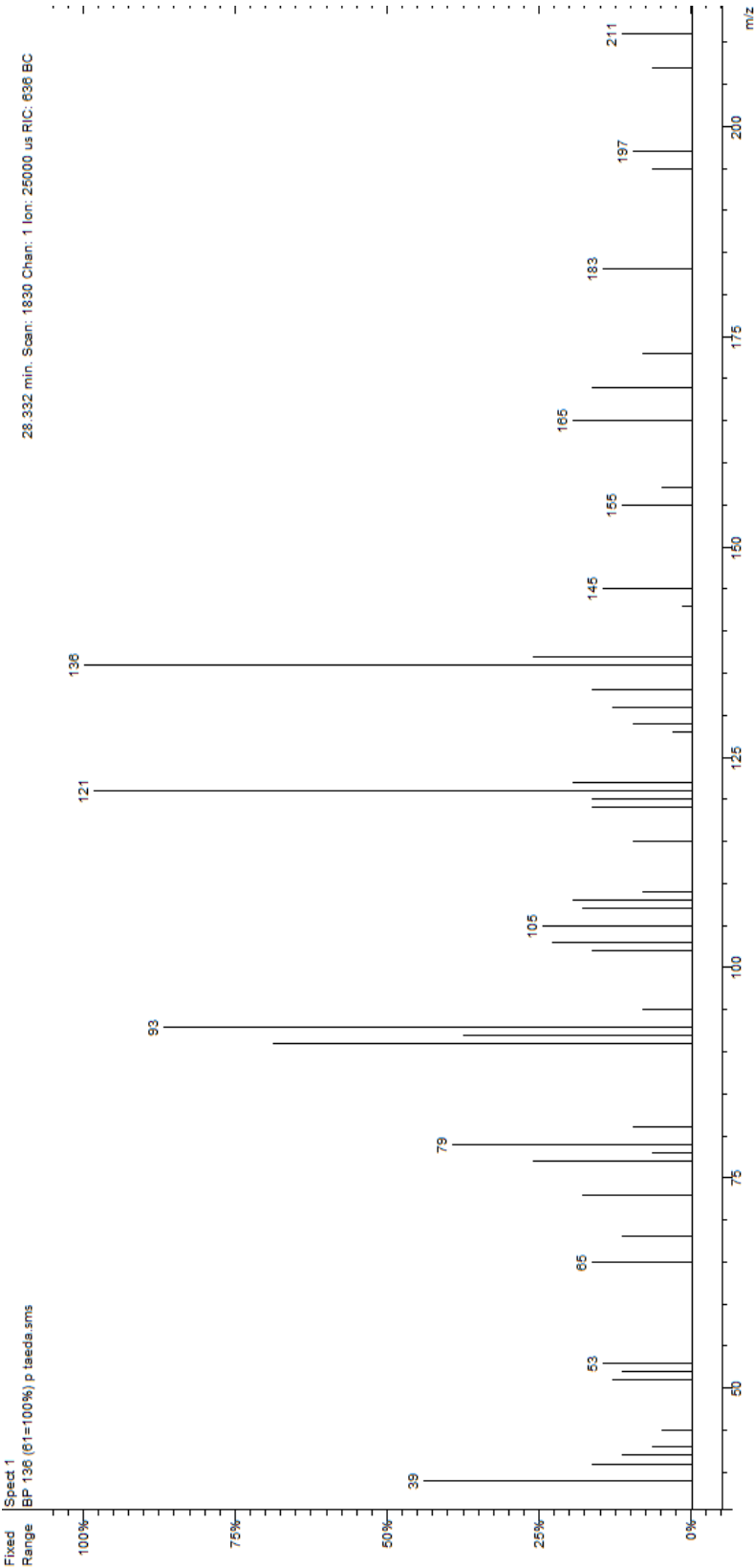


Espectro de massas do *p*-menta-2,4(8)-dieno

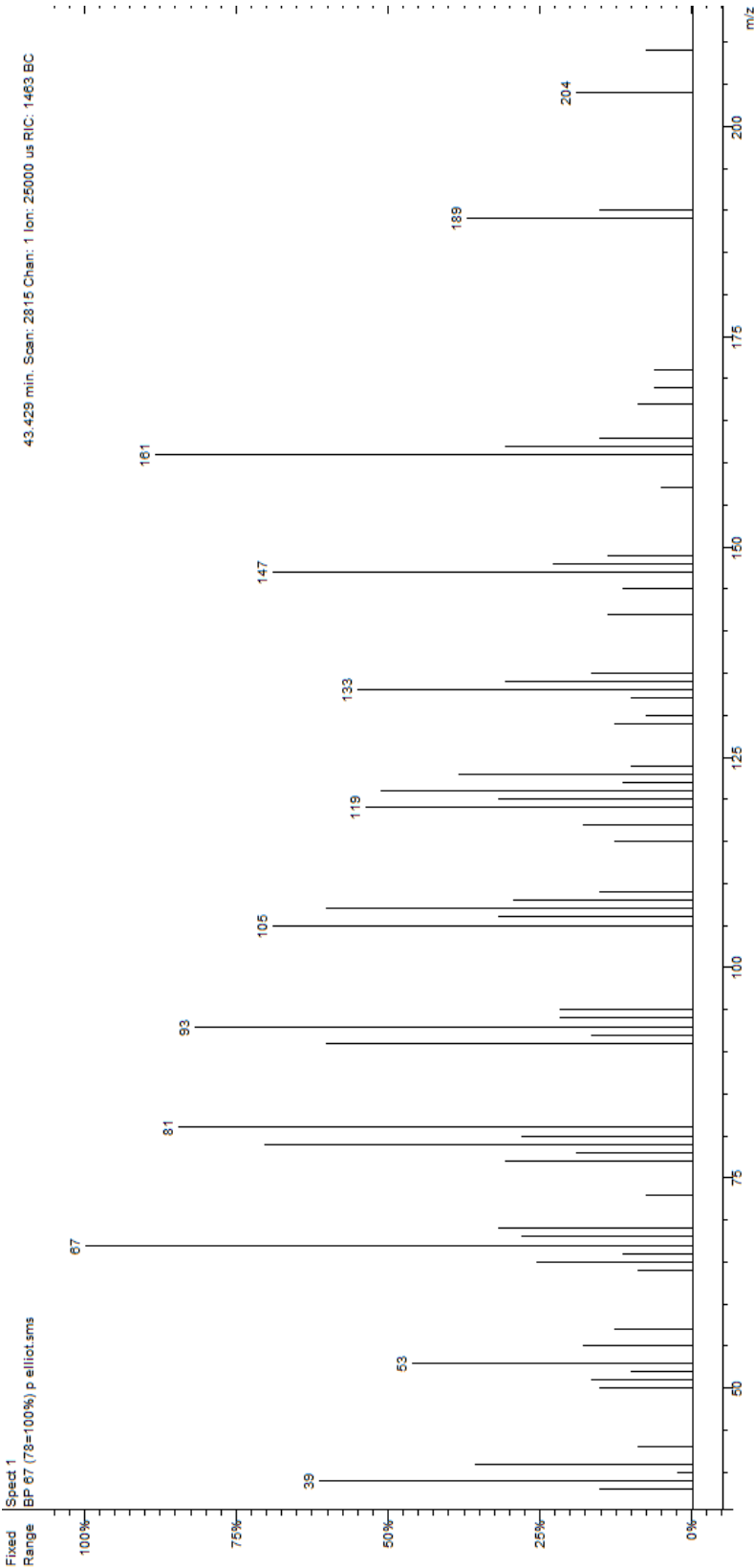
Espectro de massas do éter timol metílico



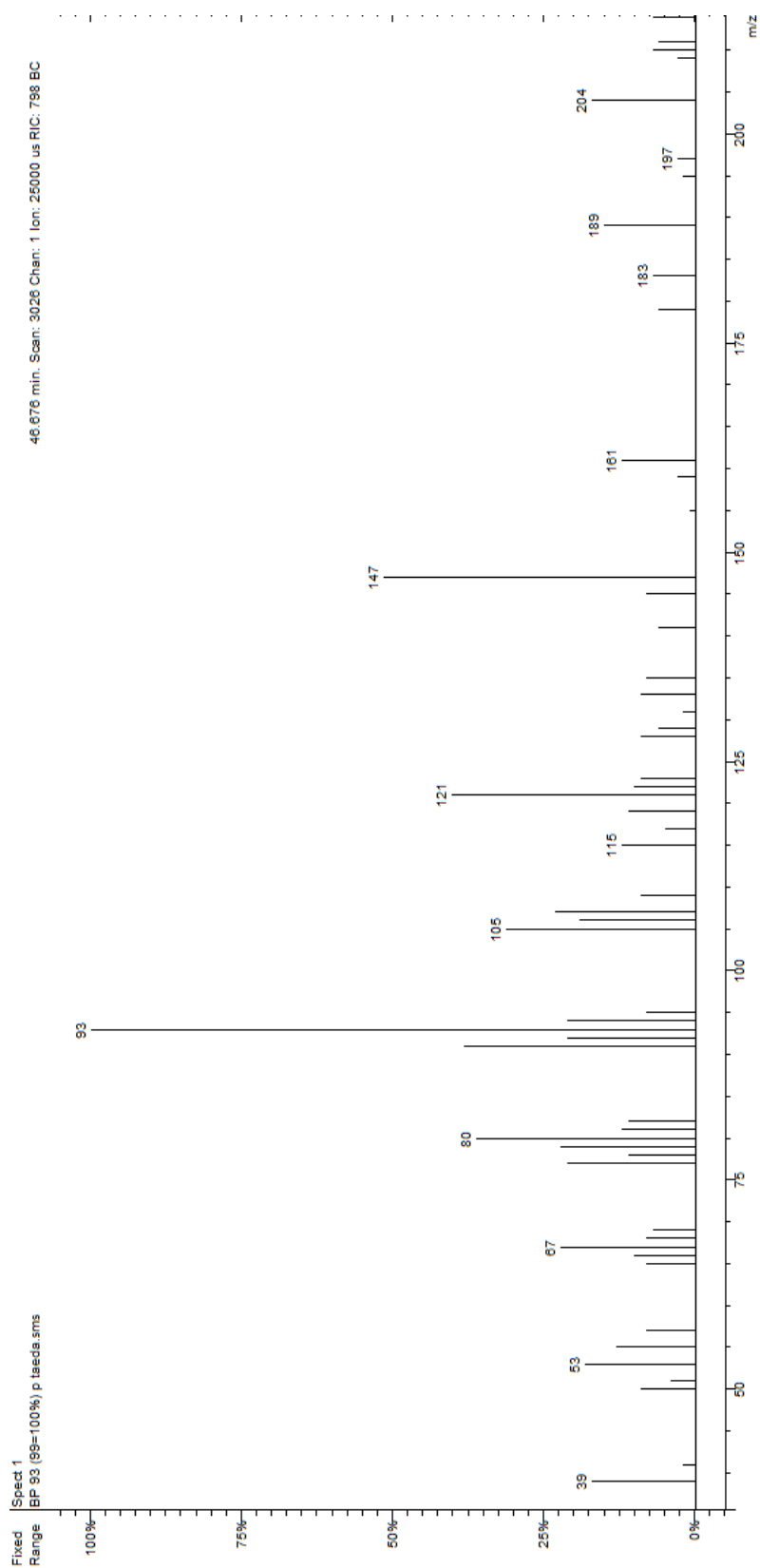
Espectro de massas do acetato de bornila



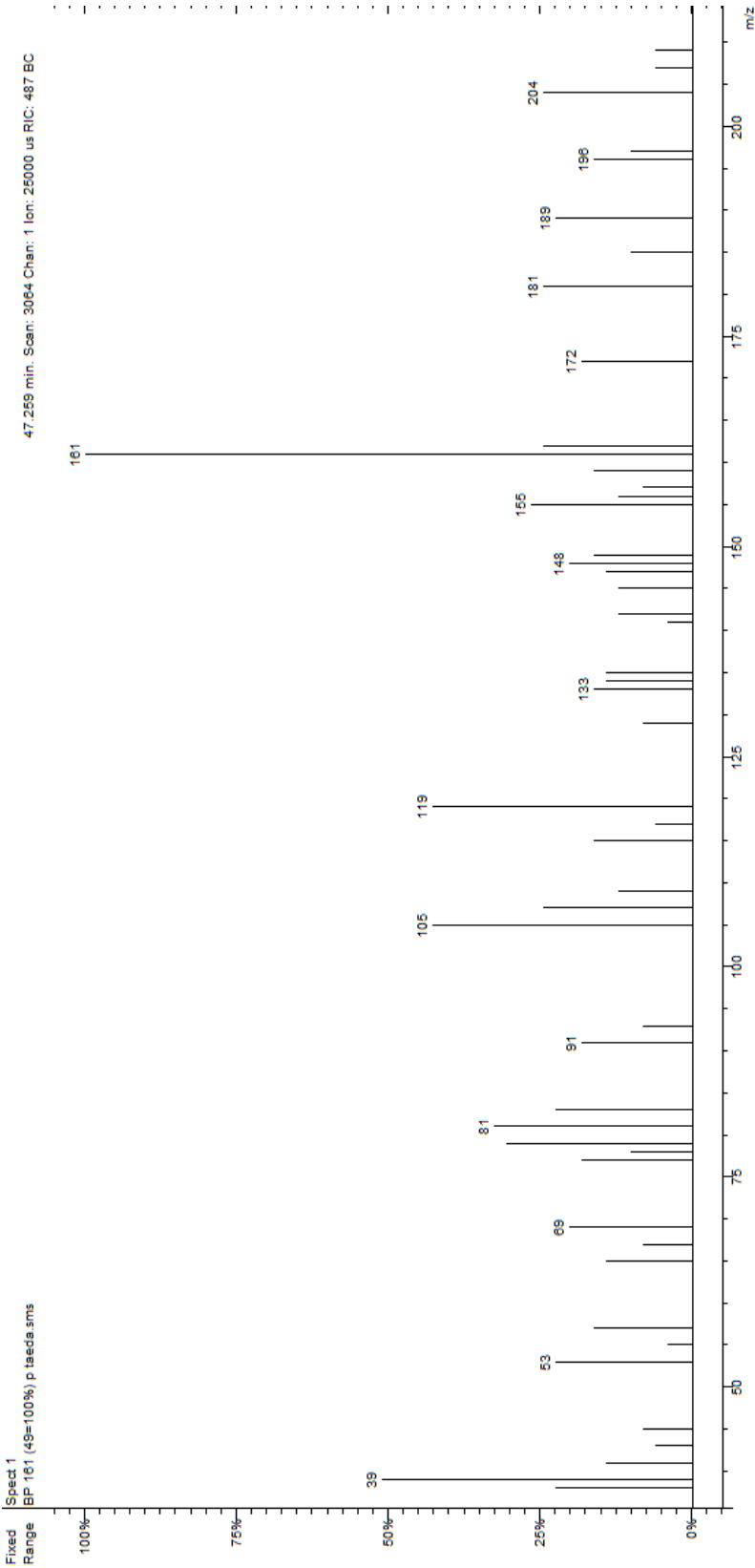
Espectro de massas do β -elemeno



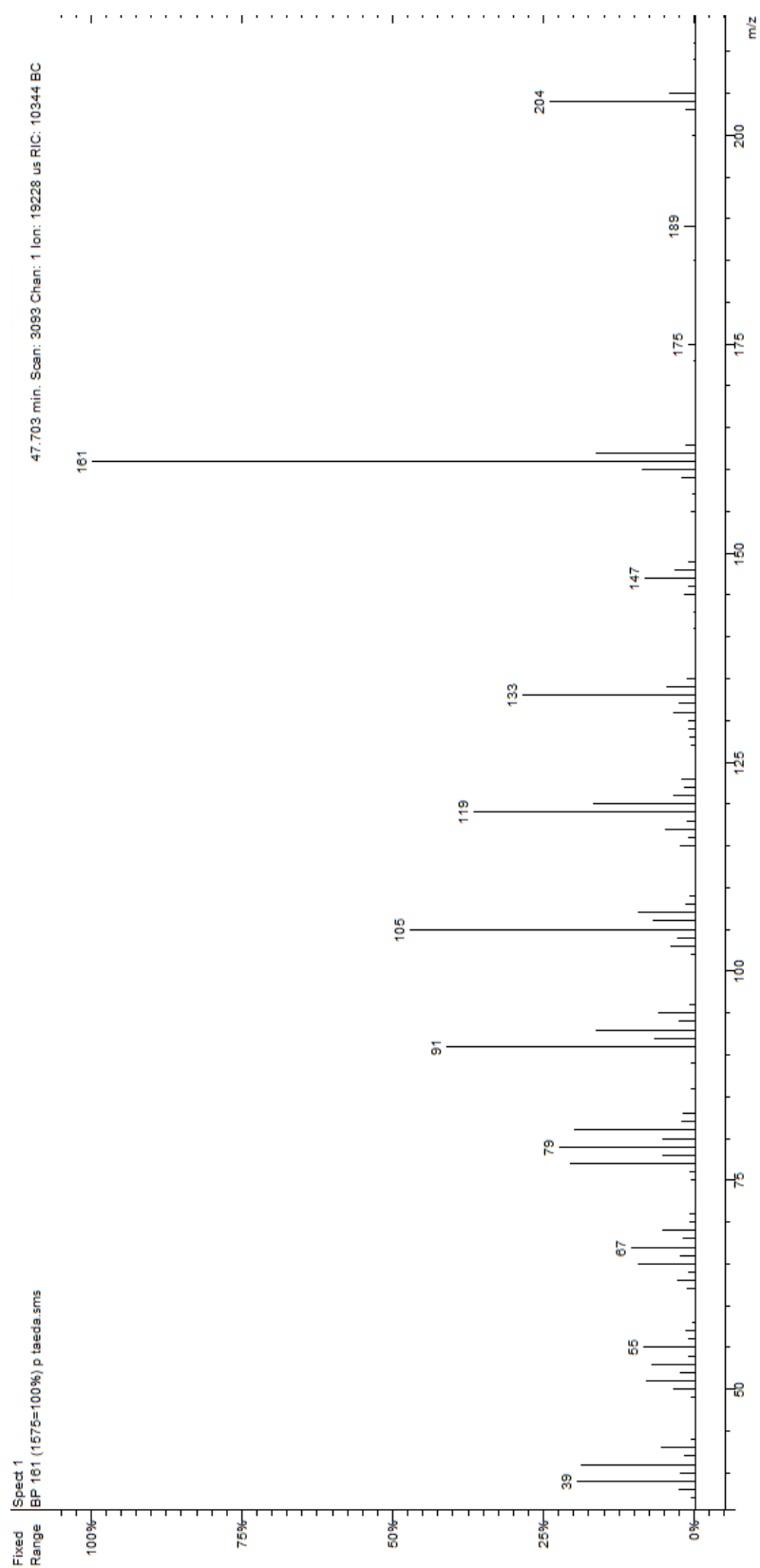
Espectro de massas do (E)-cariofileno

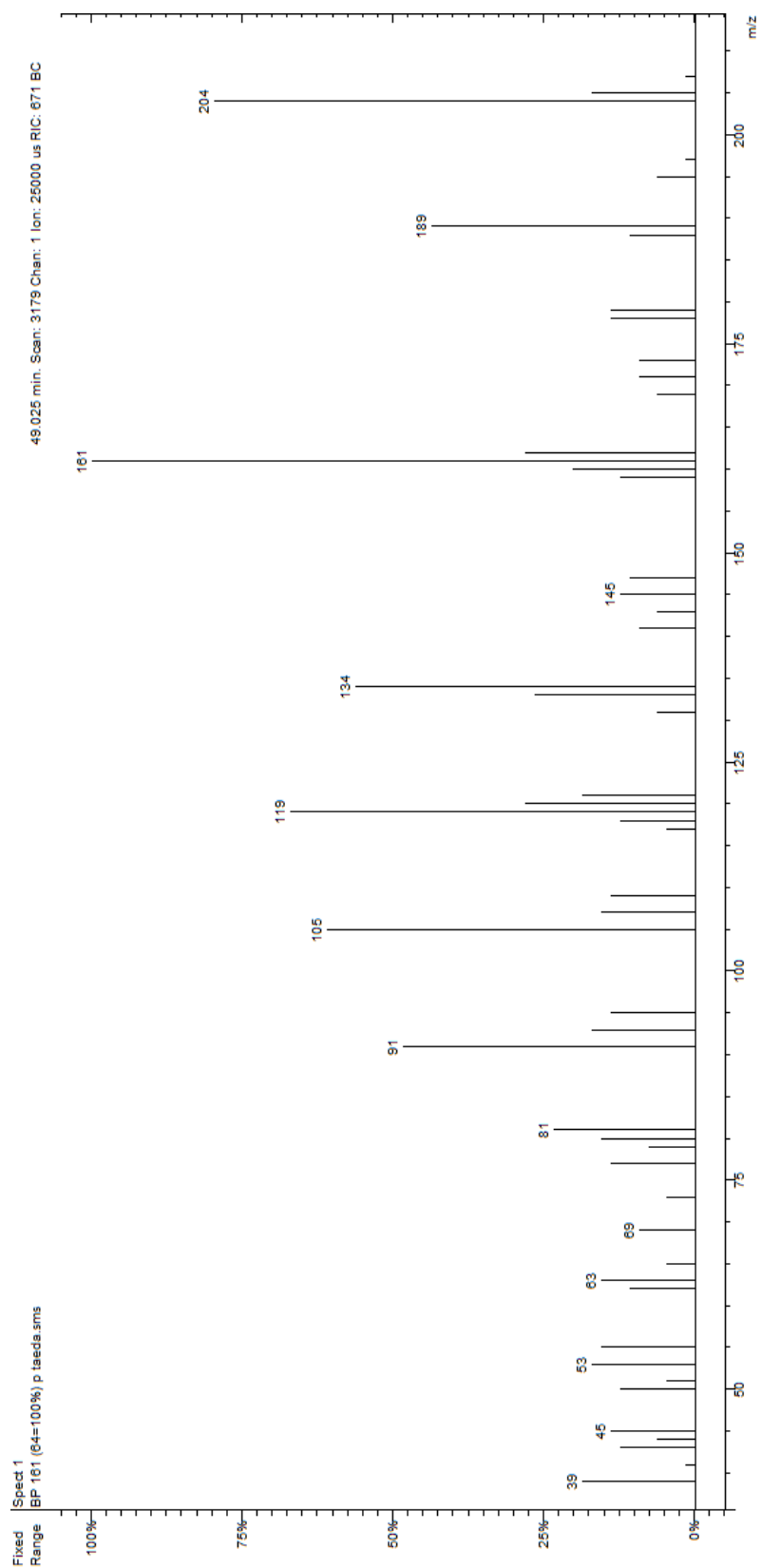


Espectro de massas do α -humuleno

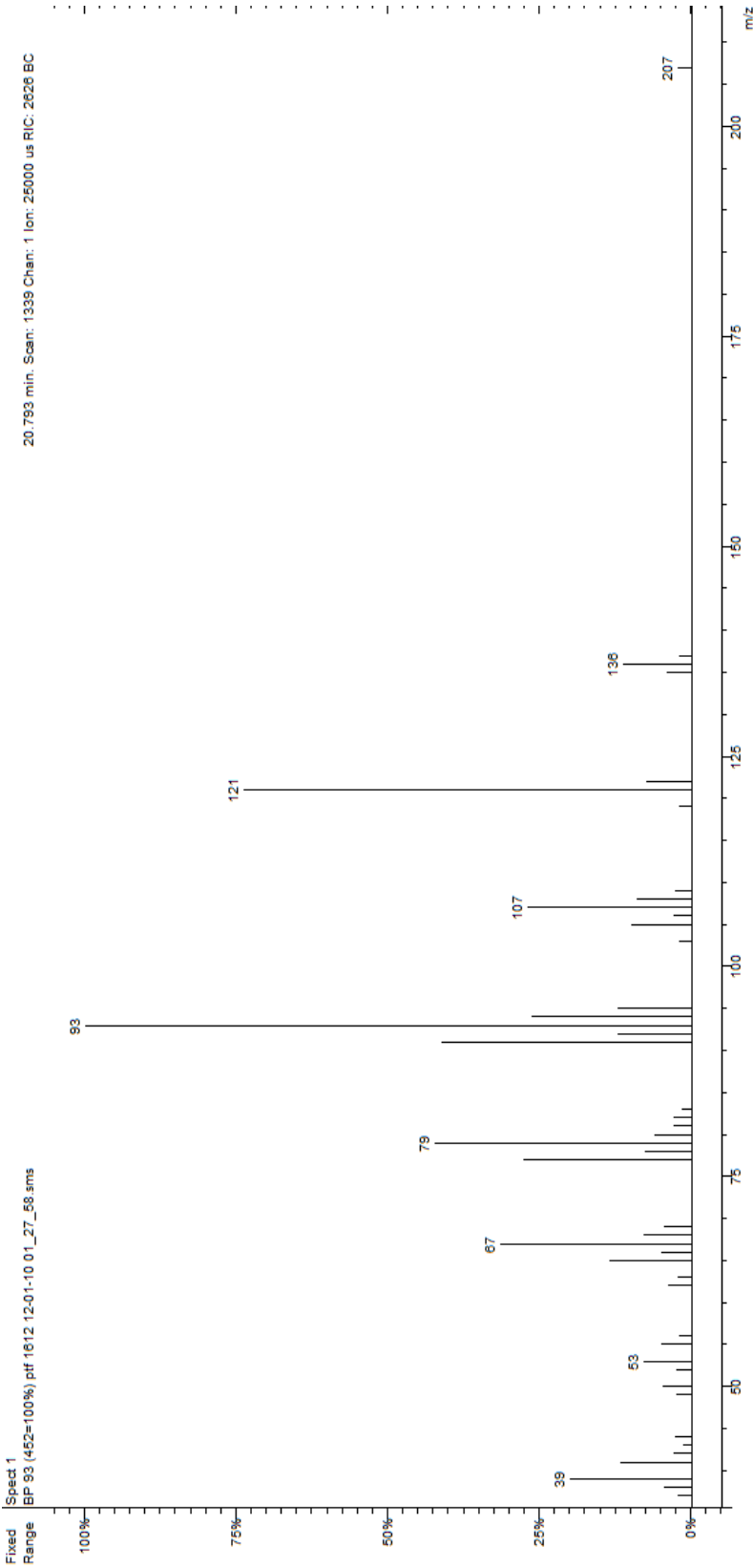


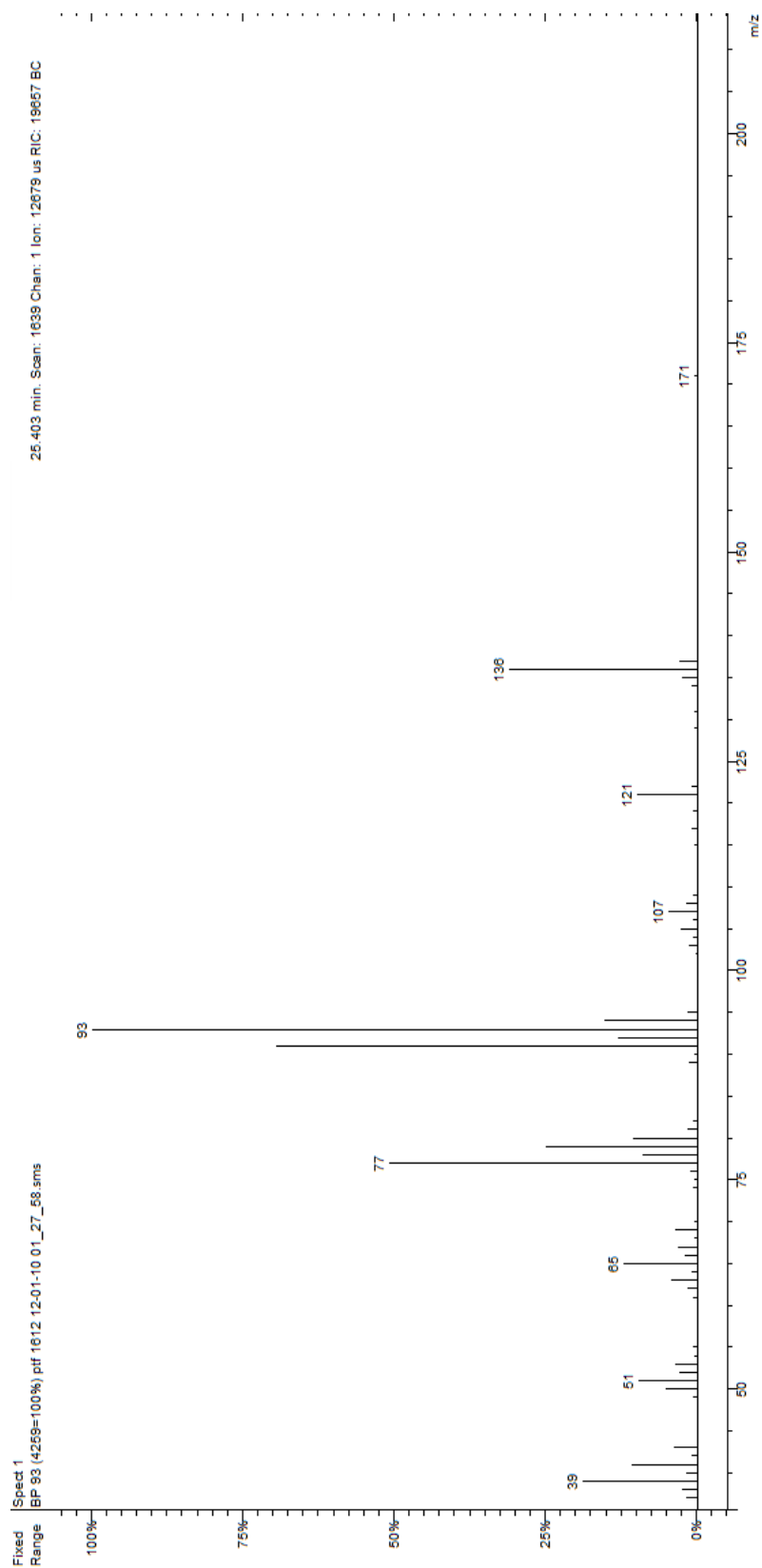
Espectro de massas do germacreno D



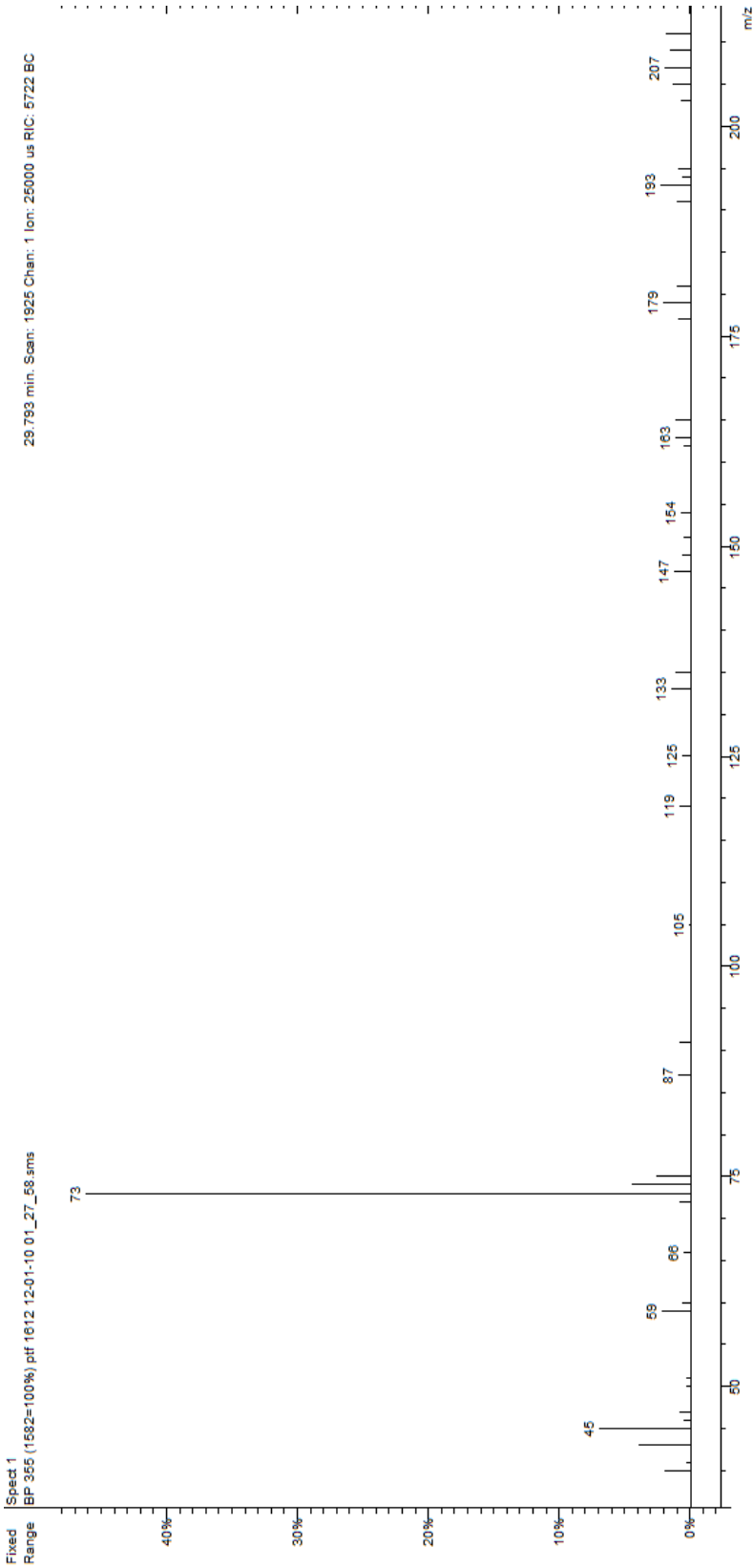
Espectro de massas do α -muuruleno

Espectro de massas do canfeno

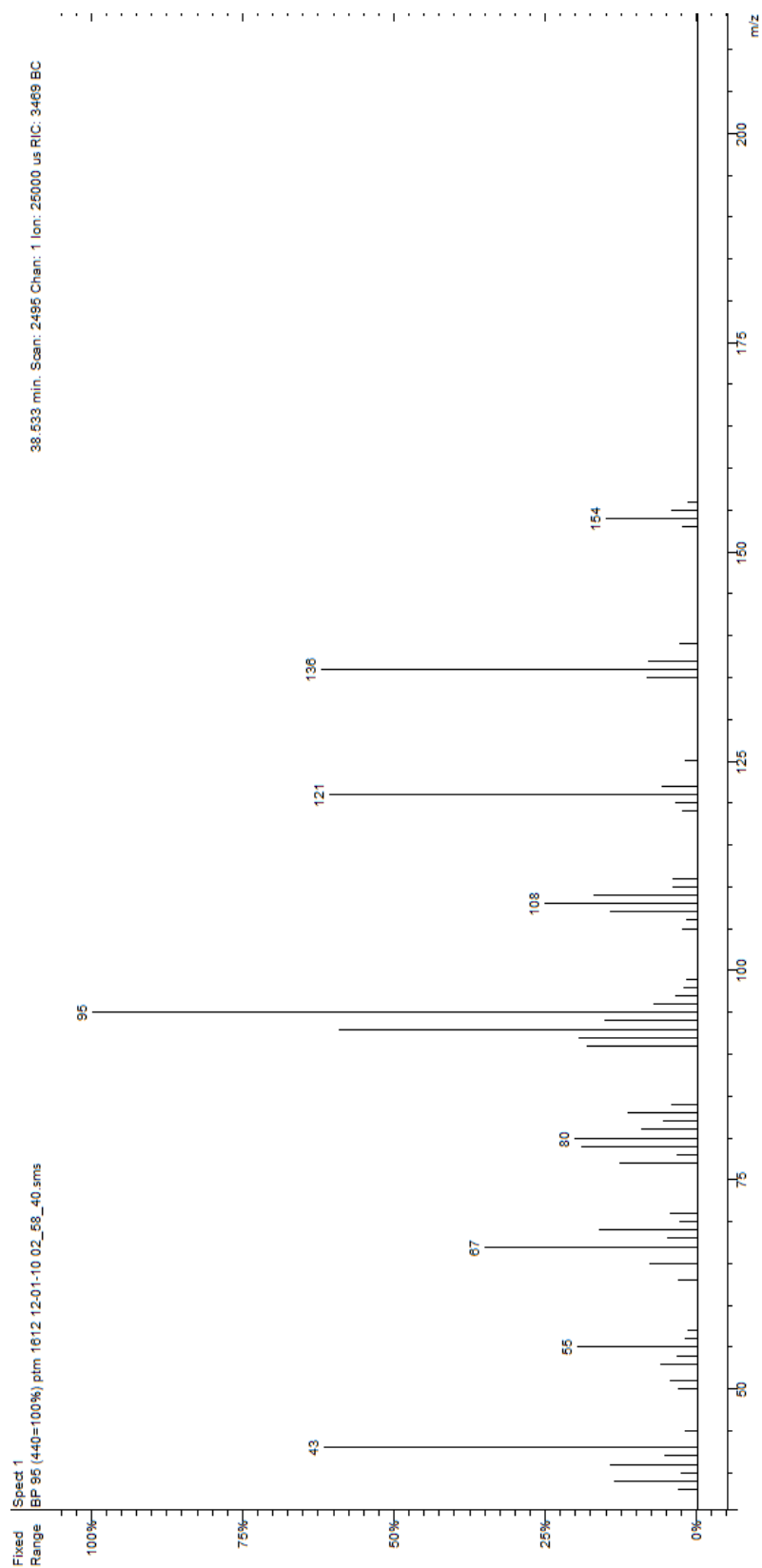


Espectro de massas do (Z)- β -ocimeno

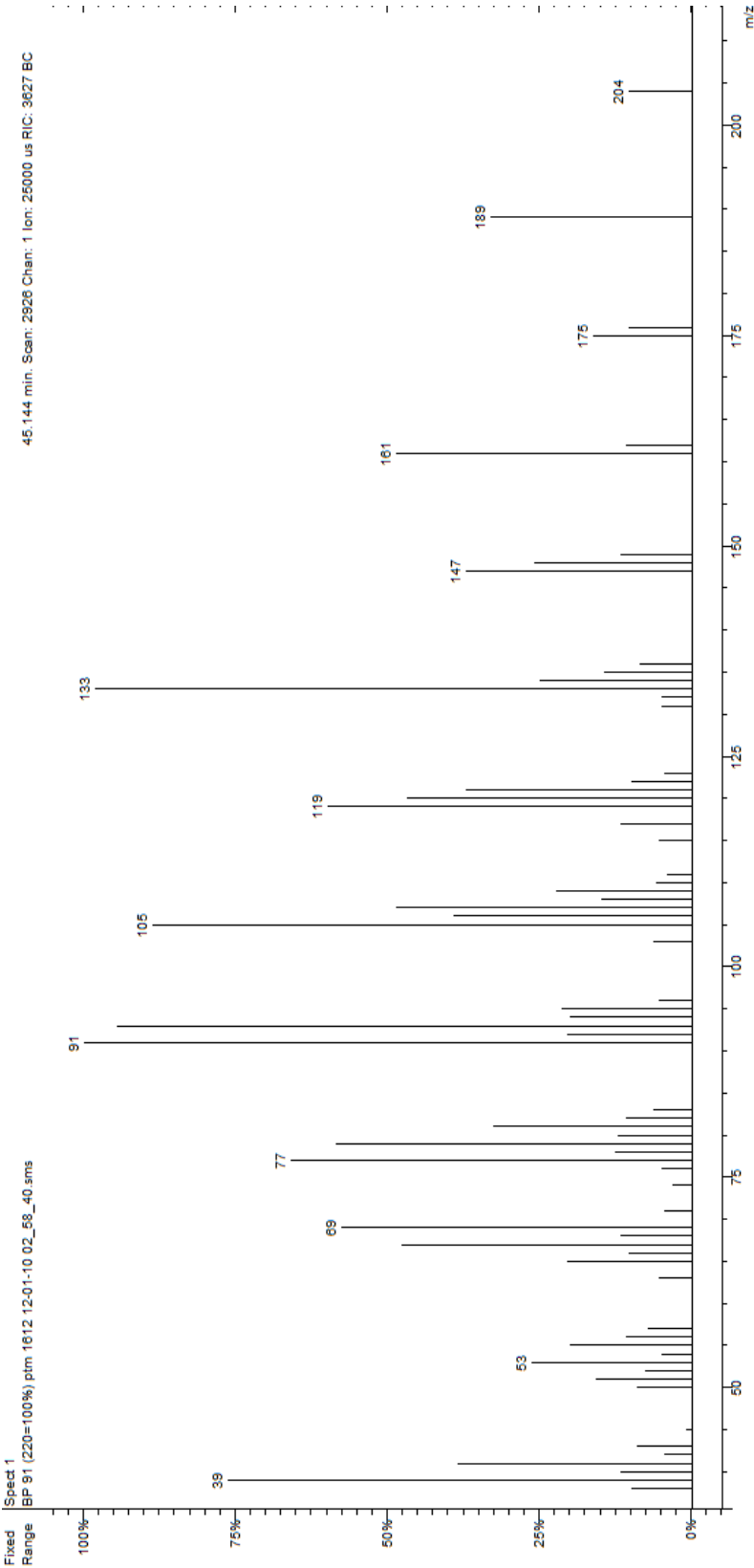
Espectro de massas do composto 1121



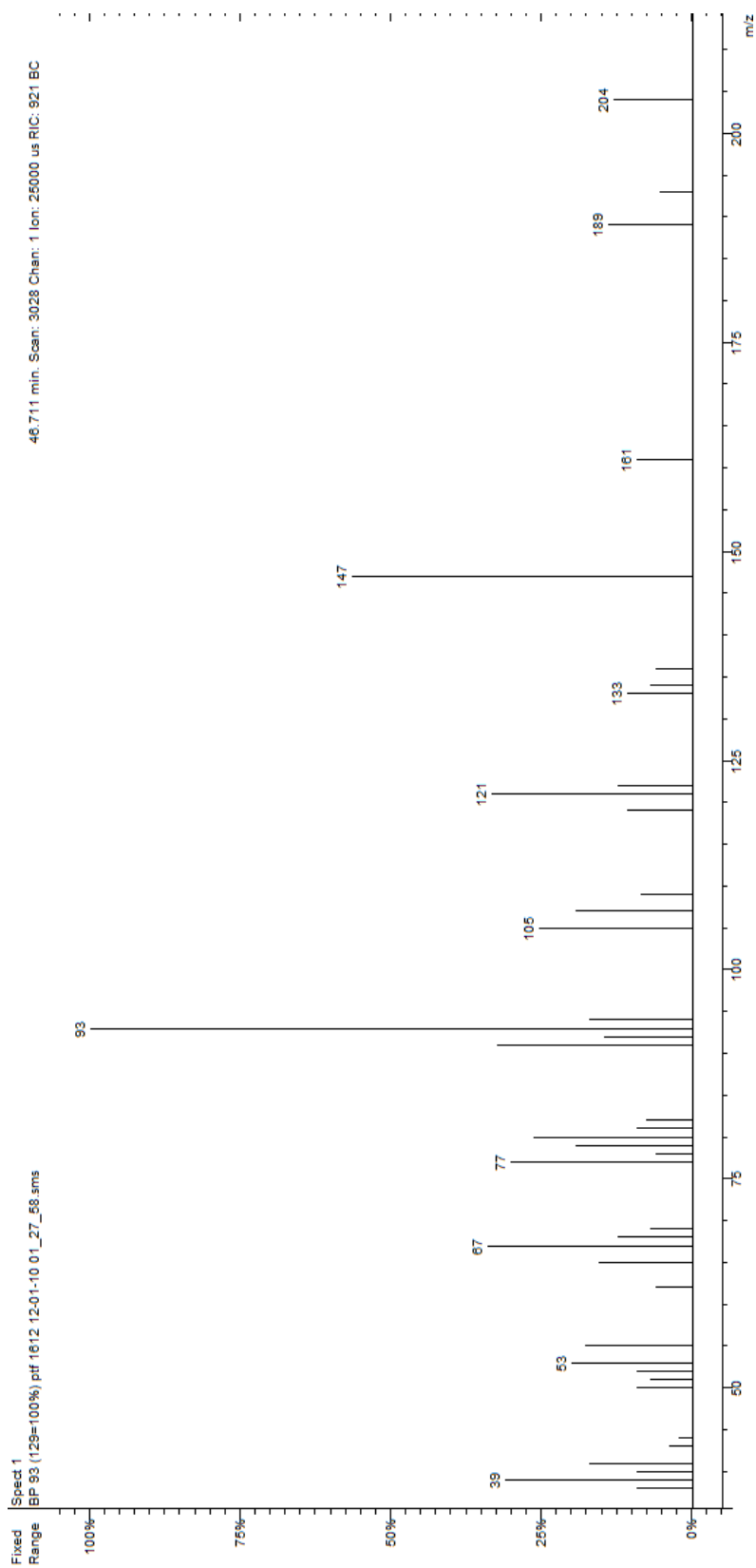
Espectro de massas do acetato de isobornila

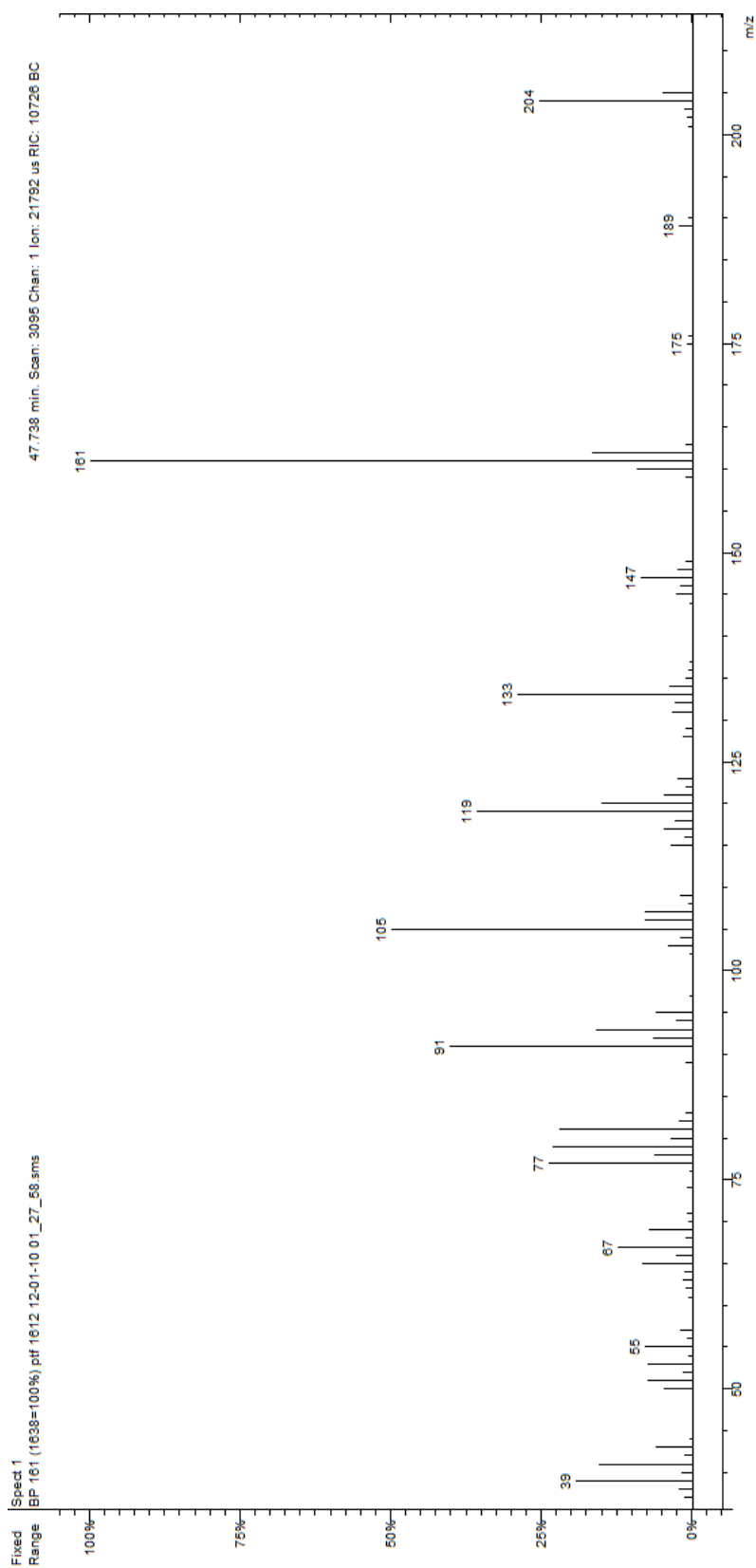


Espectro de massas do prezizaeno



Espectro de massas do composto 1480



Espectro de massas do (*E*)-muurola-4(14),5-dieno

Espectro de massas do zonareno

